

Institut für Chemie

Dissertation

2'-Nukleolipide: Synthese, molekulare Erkennung und ihr Verhalten in Membranen

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium ((Dr. rer. nat.))

im Fach Chemie

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

der Humboldt-Universität zu Berlin

Dipl.-Chem. Oliver Kaczmarek, geb. Heyder, geboren am 05.05.1979 in Berlin

Dekan: Herr Prof. Dr. rer. nat. habil. Lutz-Helmut Schön

Gutachter: 1. Prof. Dr. Jürgen Liebscher

2. PD Dr. rer. nat. habil. Rainer Mahrwald

eingereicht: 25. November 2008

Datum der Promotion: 11. Dezember 2008

Zusammenfassung

Ausgangspunkt dieser vorliegenden Arbeit waren bisherige Untersuchungen unseres Arbeitskreises zum Membranverankerungsverhalten (Phospholipidmembranen, LUV) von Nukleosiden und Oligonukleotiden, welche einen lipophilen Anker an der 5-Position der Pyrimidin- oder an der 8-Position der Purinbase tragen. Diese Nukleolipide ankern gut in der Membran, stehen aber nicht mehr für eine Watson-Crick-Basenpaarung an der Phasengrenzfläche zu Verfügung. Demnach wurde durch die Verwendung unterschiedlicher Reaktionen (Veresterung, Thioetherbildung, Carbamoylverknüpfung oder „Clickreaktion“ zu Triazolen) und verschiedener funktioneller Gruppen (Hydroxy, Thiohydroxy, Azid, Amin) an die 2'-Position der Nukleoside eine Reihe von lipophilen Resten (Alkylketten, Cholesterol, Pyren) eingeführt. Diese Konjugate verankerten ebenfalls gut in den Membranen und es zeigten sich erste Hinweise, dass durch die Einführung eines Spacers zwischen dem Nukleosid und dem lipophilen Anker, eine Basenpaarung an der Phasengrenzfläche möglich ist. Weiterhin zeigte es sich, dass Nukleolipide mit nur einem lipophilen Rest nicht stabil in Membranen verankern, vor allem, wenn dieser nicht verzweigt ist. Bei der Anwendung von Oligonukleotiden zum Ankern in Membranen ist es unbedeutend, an welcher Stelle der lipophile Rest am Nukleotid vorkommt, denn zum einen geht das entsprechende Nukleolipid selbst keine Basenpaarung ein und zum anderen erfolgt keine Basenpaarung über dieses hinweg.

Für biotechnologische Anwendungen konnte mit Hilfe dieser synthetisierten lipophilen Oligonukleotide gezeigt werden, dass zwei vesikelmembranverankerte Oligonukleotide, welche komplementäre Enden tragen, eine Doppelhelix miteinander bilden und so diese beiden Vesikel auf einen definierten Abstand halten können.

Da Nukleolipide einen amphiphilen Charakter aufweisen, sollte unter dem AFM untersucht werden, ob diese supramolekulare Strukturen zeigen. Dies wurde in der Tat auch beobachtet. Ebenso konnten mittels der LB-Technik LB-Schichten aus Nukleolipiden dargestellt werden.

Abstract

The starting point of this work was found in our previous studies about anchoring behaviour of lipidated nucleosides and oligonucleotides in biocompatible phospholipid membranes (LUV). That nucleosides and oligonucleotides bear a lipophilic anchor at the 5-position of pyrimidine or at the 8-position of purinbases. This nucleolipides anchor well in such membranes, but were not longer available for a Watson-Crick base pairing at the interface to water. Therefore lipophilic groups (alkyl chain, cholesterol, Pyren etc.) were now connected to the 2'-position of nucleosides by several reactions (esterification, thioether binding, carbamoyl binding or "click reaction") and various functional groups (hydroxy, thiohydroxy, azide, amine) to the 2'-position of nucleosides. These nucleolipides also well anchored in the model membranes, and gave first evidence that by introducing a spacer between the nucleoside and the lipophilic anchor a base pairing at the interface to water is possible. However, only one anchor is not sufficient for a stable anchoring in the phospholipid membranes, especially if they are not branched. It was found out that it is insignifacant for the application of oligonucleotides in membrane anchoring, at which position of nucleotide the lipid is attached, because on the one hand, the corresponding nucleolipid can not form a pair with a corresponding nucleobase and secondly, there is no base pairing in the nucleotides situated between two lipidated positions.

For biotechnology applications it might be interesting that two different vesicles each of it furnished with a complementary lipidated oligonucleotide could be kept together in a defined distance by forming double strand DNA.

Since nucleolipide possess amphiphilic character, there abillity to form supramolecular structures was investigated by atomic force microscope (AFM). In addition formation of LB-layers could be achieved by LB-technology.

Schlagwörter:

Oligonukleotid, Nukleolipide, Membranverankerung, Rasterkraftmikroskopie, Langmuir-Blodgett

Keywords:

oligonucleotide, nucleolipide, membrane anchoring, atomic force microscopy, langmuir-blodgett

Inhaltsverzeichnis

Abstract	3	
Inhaltsverzeichnis	5	
Widmung	7	
Abkürzungsverzeichnis	8	
1	Einleitung und Aufgabenstellung	1-1
1.1.	Einleitung	1-1
1.2.	Interaktion von Substanzen mit biologischen Membranen	1-3
1.3.	Derzeitiger Stand der Forschung auf dem Gebiet der Nukleolipide	1-8
1.3.1.	Synthese und Anwendung von Nukleolipiden	1-8
1.3.2.	Verhalten von Nukleolipiden an Phasengrenzflächen	1-15
1.3.3.	Supramolekulare Verhalten von Nukleolipiden	1-18
1.4.	Aufgabenstellung – Warum 2'-Nukleolipide	1-24
2	Allgemeiner Teil	2-28
2.1.	Synthese von Ethern und Estern	2-28
2.2.	2'-Carbamoylnukleoside	2-44
2.3.	Synthese von Uridin-2'-Thioethern und Uridin-2'-Disulfiden	2-50
2.4.	„Click-Reaktionen“ an 2'-Azido-2'-desoxyuridin	2-59
2.5.	Reaktionen an 2'-Amino-2'-desoxyuridin	2-66
2.6.	Kreuzkupplungen an 2'-Iod-2'-desoxyuridin	2-68
2.7.	Sonogashirareaktion an 5-Iod-2'-desoxyuridin	2-71
2.8.	Synthese der Oligonukleotide	2-73
2.9.	NMR-Spektroskopische Untersuchungen	2-82
2.9.1.	Untersuchungen an Nukleosiden	2-82
2.9.2.	Untersuchungen an Oligonukleotiden	2-90
2.10.	Untersuchungen an LB-Filmen	2-95
2.11.	Biophysikalische Untersuchungen	2-97
2.12.	AFM – Untersuchungen	2-104

3	Zusammenfassung	3-116
4	Experimenteller Teil	4-124
4.1	Allgemeine experimentelle Bedingungen	4-124
4.2	Versuchsvorschriften	4-126
Literaturverzeichnis	4-189	
Anhang	4-213	
Danksagung	4-245	
Eidstattliche Erklärung	4-246	

Widmung

*We absolutely must leave room for doubt or there is no progress and no learning. There is no learning without having to pose a question. And a question requires doubt. People search for certainty. But there is no certainty – **Richard Feynman***

meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis

AFM	Rasterkraftmikroskopie (<i>atomicforce microscopy</i>)
ATP	Adenosintriphosphat
aq.	wässrig, in wässriger Lösung
arom.	aromatisch
Bn	Benzyl-
ber.	berechnet
CDI	Carbonyldiimidazol
CMC	kritische Mizellenkonzentration
CPG	Glas mit definierter Porengrösse (<i>controlled pore glass</i>)
COSY	Korrelations-Spektroskopie
CSA	Anisotropie der chemischen Verschiebung
CycH	Cyclohexan
CuAAC	Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dest.	destilliert
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIPEA	Diisopropylethylamin
DLS	Dynamic Light Scattering
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMTr	Dimethoxytrityl-
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>deoxyribonucleic acid</i>)
DOP	Difference Order Parameter
(DPPF) ₂	1,1'-Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen

dsRNA	<i>double-stranded ribonucleic acid</i>
DTBS	Ditertbutylsilyl-
eq.	Äquivalente
et al.	et alii, et aliae, et alia (lat. für und andere)
EtOH	Ethanol
EtOAc	Ethylacetat
exp.	Experimentell
Far.	Farnesyl (3,7,11-Trimethyl-dodeca-2,6,10-trien-1-R)
FRET	<i>fluorescence energy transfer</i>
GDP	Guanosindiphosphat
gef.	gefunden
Ger.	Geranyl (3,7-Dimethyl-octa-2,6-dien-1-R)
GUV	<i>giant unilamellar vesicle</i>
GTP	Guanosintriphosphat
HDL	<i>high density lipid</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HR	<i>high resolution</i>
ID ₅₀	<i>infectious dose to 50 percent of exposed individuals</i>
kat.	katalytisch
konz.	konzentrierte
LDL	<i>low density lipid</i>
Lit.	Literatur
LM	Lösungsmittel
LUV	<i>large unilamellar vesicle</i>
m	Multiplett
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MLV	<i>multilamellar vesicle</i>

MS	Massenspektrometrie
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
NB	Nukleobase
NBD	4-Nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol
NBS	N-Bromsuccinimid
nm	Nanometer
NMP	1-Methyl-2-pyrrolidinon
NMR	Kernmagnetische Resonanz
NOE	<i>nuclear overhauser effect</i>
n-BuLi	n-Butyllithium
ONA	Oligonukleinsäure (<i>oligo nucleic acid</i>)
ODN	Oligodesoxynukleotid
PG	Schutzgruppe (<i>Protective Group</i>)
Ph	Phenyl
POPC	1-Palmitoyl-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
POPC- d_{31}	1-palmitoyl- d_{31} 1-2-oleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholin
PTAD	4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion
R	organischer Rest
R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonukleinsäure (<i>ribonucleic acid</i>)
RISC	<i>ribonucleic acid -induced silencing complex</i>
RT	Raumtemperatur
q	Quartett
s	Singulett
s. Abb	siehe Abbildung
s. Abs.	siehe Abschnitt
Sdp.	Siedepunkt
Smp.	Schmelzpunkt

SNARE	<i>soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor</i>
siRNA	<i>small interfering ribonucleic acid</i>
s. Tab.	siehe Tabelle
SUV	<i>small unilamellar vesicle</i>
t	Triplett
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBDMS	tertiär-Butyldimethylsilyl-
TBDPS	tertiär.-Butyldiphenylsilyl-
TEA	Triethylamin
TEG	Tetraethylenglycol
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIPDSCI	1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan
TMS	Trimethylsilyl-
Tos	p-Toluolsulfonyl-

1 Einleitung und Aufgabenstellung

1.1. Einleitung

Die lebende Zelle besteht aus einer Unzahl chemischer Substanzen, welche miteinander interagieren und so neue Verbindungen entstehen lassen. Unter diesen befinden sich Nukleinsäuren (DNA, RNA) die unter anderem beim genetischen Code und der Proteinbiosynthese eine wesentliche Rolle spielen. Die molekulare Erkennung ist in vielen fundamentalen biologischen Prozessen, wie Katalyse, Regulation und Signaltransduktion von entscheidender Bedeutung. Diese drei Prozesse werden ebenfalls von der RNA ausgeübt, wodurch sie unter dem Stichpunkt „It's an RNA World“ eine Schlüsselrolle in der Entstehung des Lebens zugeschrieben bekommen hat (Copley et al., 2007; Corradini et al., 2007; Gilbert, 1986; Joyce, 2002). Aus all diesen Gründen besitzen Nukleosidderivate schon seit längerer Zeit eine große Bedeutung in der pharmazeutischen Industrie (Corradini et al., 2007; Corradini et al., 2007; Rosemeyer, 2004; Rosemeyer, 2005), der Biotechnologie (Barnes und Dickson, 2006; Hirao et al., 2006; Sturino und Klaenhammer, 2006) und selbst der Materialwissenschaft (Alberti et al., 2006; Beissenhirtz und Willner, 2006; Mao et al., 2000).

Durch diese vielfältigen Möglichkeiten der molekularen Erkennung der Nukleoside werden diesen Substanzen unterschiedliche Ansätze eingeräumt. So bietet der Einsatz von Nukleinsäurederivaten und/oder Oligonukleotiden einen therapeutischen Ansatz, um zum Beispiel in die Genexpression oder auch in die Genregulation einzugreifen. Zum einen kann man durch den Einbau von unnatürlichen Nukleosiden während der Transkription die Genexpression stoppen. Ein Beispiel hierfür ist Acyclovir, welches als Mittel gegen verschiedene Herpesviren eingesetzt wird (Herpes Simplex Virus Typ I/II (HSV-1/2), Varicella-Zoster-Virus (VZV), Epstein-Barr-Virus (EBV)) (Fiddian, 1995; Kulikowski, 1994; Kussmann-Gerber et al., 1999). Seine Wirksamkeit besteht darin, dass es in der Zelle zuerst durch die virale Thymidinkinase, welche 3000-mal aktiver ist, als die zelluläre Thymidinkinase, phosphoryliert wird. Anschließend fügt es sich als Acyclo-GTP in die virale DNA ein, was während der Translation zum Kettenabbruch führt.

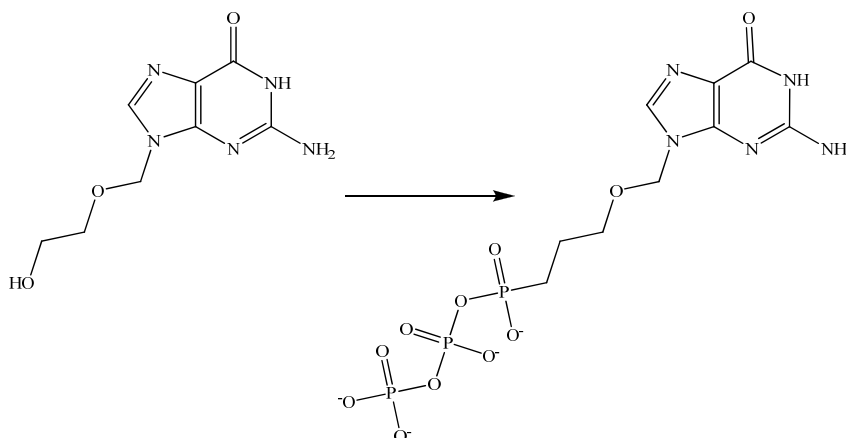


Abbildung 1: Strukturen von Acyclovir (links) und Acyclo-GTP (rechts)

Zum anderen kann man mittels RNA-Interferenz (siRNA, microRNA) (Corey, 2007; Fire et al., 1998; Manoharan, 2004) direkt in die Proteinbiosynthese eingreifen. Das Prinzip besteht darin, dass die mRNA, welche das entsprechende Gen codiert in ihrer Translation durch die siRNA oder microRNA blockiert wird. Der Unterschied

zwischen der siRNA und der microRNA bestehe in ihrer Herkunft. Die microRNA wird auf eigenen pri-miGenen codiert, welche durch bestimmte Enzyme pri-microRNA, in Form von Hairpinstrukturen, transkribieren. Die siRNA stammt aus Transposons oder viralen Quellen. SiRNA und microRNA werden durch das Enzym „Dicer“ aus den entsprechenden dsRNA herausgeschnitten (ca. 21 nucleotidlange Doppelstränge) und anschließend unter ATP-Verbrauch entwunden und in einen *sense* und einen *antisense*-Strang gespalten. Die „reifen“ RNAs binden darauf an den RISC-Komplex (*RNA-induced silencing complex*). An den *sense*-Strang kann sich sodann komplementär die entsprechende mRNA binden (s. Abb. 2). Da sich im RISC-Komplex RNA-Helicase- und Nuklease-Aktivitäten befinden, wird die mRNA entwunden und durch die Nukleasen gespalten. Sie steht demnach nicht mehr der Proteinbiosynthese zu Verfügung. Eine genauere Beschreibung des Mechanismus gibt Sontheimer in seinem in „Nature“ veröffentlichten Artikel wieder (Sontheimer, 2005).

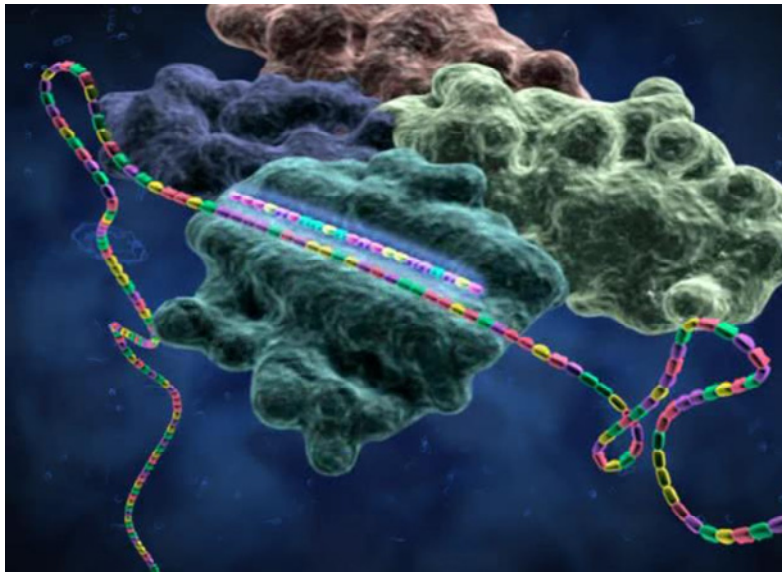


Abbildung 2: SiRNA (microRNA) und mRNA im RISC-Komplex (aus MedGadget, 2005)

Ein Problem bei der Applikation von Wirkstoffen wie Acyclovir oder auch von synthetischen siRNA besteht in der Bioverfügbarkeit der Substanzen in den Zellen.

1.2. Interaktion von Substanzen mit biologischen Membranen

Während lipophile Botenstoffe die Lipidmembran von Zellen leicht passieren können, ist das für hydrophile Signalstoffe (bis auf kleine, ungeladene Moleküle wie CO_2 oder Harnstoff), wie vor allem polyanionische hydrophile Oligonukleotide, deutlich schwieriger. Dies ist meist biochemisch nur durch membrandurchspannende Rezeptoren möglich, welche das entsprechende Signal in das Zellinnere weitergeben können. Die für die Signaltransduktion verantwortlichen Rezeptoren werden in zwei Klassen eingeteilt:

Zu der einen gehören unter anderem die Steroidrezeptoren. Man spricht hier von intrazellulären Rezeptoren, denn der Ligand muss dafür die Zellmembran permeieren.

Die zweite Klasse stellen die Transmembranrezeptoren dar, welche in verschiedene Unterarten unterteilt werden, zu denen unter anderem die Ionenkanäle gehören. Diese transmembranen Proteine binden einen Signalstoff, wodurch eine Öffnung des Kanals für bestimmte Ionen induziert wird. Weiterhin sind Enzym-gekoppelte Rezeptoren transmembrane Proteine bekannt. Diese binden Signalmoleküle, wodurch eine Konformationsänderung eine Autophosphorylierung der einzelnen Rezeptoren bewirkt, so dass das Signal ins Zellinnere weitergeleitet wird. Häufig handelt es sich bei diesen um Tyrosinkinase-gekoppelte Rezeptoren. Die dritte Art der membran Proteine bilden die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, welche ein Signal über Guaninnukleotidbindende Proteine in die Zelle transportieren. Dabei veranlasst der Rezeptor den Austausch von GDP gegen GTP, wodurch ein Zerfall des G-Proteins erfolgt. Makromoleküle, wie Peptide oder Proteine werden über rezeptorvermittelte Endocytose in die Zelle aufgenommen. Jedoch gibt es für die DNA kaum natürliche Möglichkeiten eines Zelltransfers (eine Ausnahme wäre z.B. die Plasmabrücke bei Bakterien). Da viele Wirkstoffe ihre Information weder durch Signaltransduktion, noch durch biologische Kanäle an das Zellinnere übertragen können, gilt es, an anderen Wegen der Signalübertragung zu forschen.

Eine Alternative, die Verankerung und eventuell darauf basierend den Durchtritt einer Nukleinsäure durch eine Lipidmembran zu erzielen, besteht in der kovalenten Verknüpfung von Nukleinsäuren bzw. Nukleosiden mit Lipidresten. Derartige Konjugate aus Nukleobase, Nukleosid, Nukleotid oder Oligonukleotid und Lipid bezeichnet man als Nukleolipid (Smrt und Hynie, 1980). Ein in der Natur weit verbreitetes Nukleolipid ist das Cytidindiphosphatdiacylglycerol (s. Abb. 3), welches bei der Glycerollipidbiosynthese die Diphosphatdiacylglycerolgruppe auf einen Zucker oder ein Protein übertragen kann und sich somit die anionischen Phospholipide, wie das Cardiolipidin, das Phosphatidylglycerin oder das Phosphatidylinisol bilden.

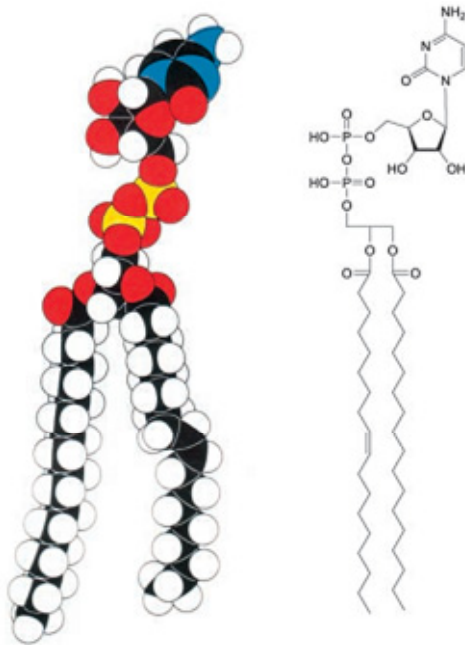


Abbildung 3: Struktur von Cytidindiphosphatdiacylglycerol

Auch sind seit längerer Zeit weitere monomere Nukleolipide bekannt, welche aus natürlichen Quellen isoliert und charakterisiert worden sind, wie z.B. das antibakterielle Tunicamycin oder das antifunginale Septacidin (Rosemeyer, 2004). Die meisten der in der Natur vorkommenden Nukleolipide hemmen oder fördern die Bildung von Membranbestandteilen, wahrscheinlich weil sie selbst mit Hilfe des lipophilen Restes an Membranen binden können. Mitte der 80er Jahre kombinierten verschiedene Arbeitsgruppen pharmakologisch aktive Nukleoside wie 5-Fluor-2'-desoxyuridin (Zytostatikum in der Krebstherapie) kovalent mit Lipiden, welche aggregieren können. Diese Konjugate wurden in Liposomen eingebaut und anschließend in Zellen eingeschleust. Man beobachtete, dass das Liposom dabei eine verlangsamte Abgabe des Pharmastoffes hervorruft und ihn vor der enzymatischen Spaltung schützt. Damit stieg die Bioverfügbarkeit einiger Wirkstoffe, z.B. des derivatisierten 5-Fluoruracils, um das 2 bis 8-fache (Schwendener et al., 1985). Jedoch gelang dies nicht bei allen Wirkstoffen. Um z.B. die Bioverfügbarkeit, welche bei Acyclovir nur bei 10-20% liegt, zu erhöhen, stellten Rosemeyer *et al.* (Rosemeyer et al., 1985) und auch Welch *et al.* (Welch et al., 1985) Derivate dieses Wirkstoffes dar. In-vitro-Versuche zeigten einen ID₅₀ von 1 µM gegenüber HSV-1. In-vivo-Tests wiesen aber keinen therapeutischen Nutzen auf.

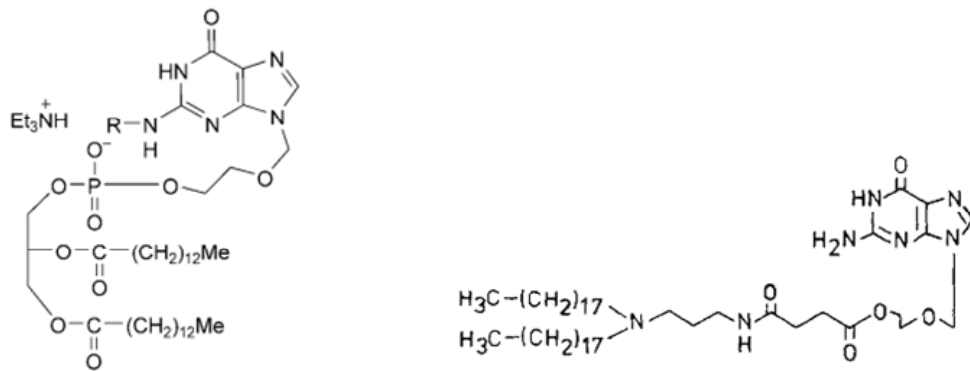


Abbildung 4: Lipophile Acyclovirderivate nach Rosemeyer *et al.* (Rosemeyer et al., 1985) (rechts) und Welch *et al.* (Welch et al., 1985) (links)

Auch die in der HIV-Therapie eingesetzten nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) Zidovudin (3'-Azido-3'-desoxythymidin) oder Cordycepin (3'-Desoxyadenosin) wurden unter anderem von Pfeleiderer *et al.* (Sigmund und Pfeleiderer, 1996; Wasner et al., 1996; Wasner et al., 1996) an 5'-Position mit einem lipophilen Glycerolphosphatrest verknüpft, um die Zellmembrandurchlässigkeit zu erhöhen und die Toxizität zu verringern.

In gleicher Weise war der Transport von siRNA problematisch und konnte u.a. mit Hilfe von Vektoren (Opalinska und Gewirtz, 2002; Schakowski et al., 2007; Schroff, 2007), welche als „Carrier“ einen Membrandurchtritt ermöglichen, erfolgen. Beispiele hierfür sind Phagen, virale Vektoren (retrovirale Transduktion) oder Nanopartikel (Vijayanathan et al., 2002). Eine weitere Möglichkeit, um siRNA oder Antisenseoligonukleotide in die Zelle einzuschleusen, erreicht man durch Lipofektion (Felgner et al., 1987).

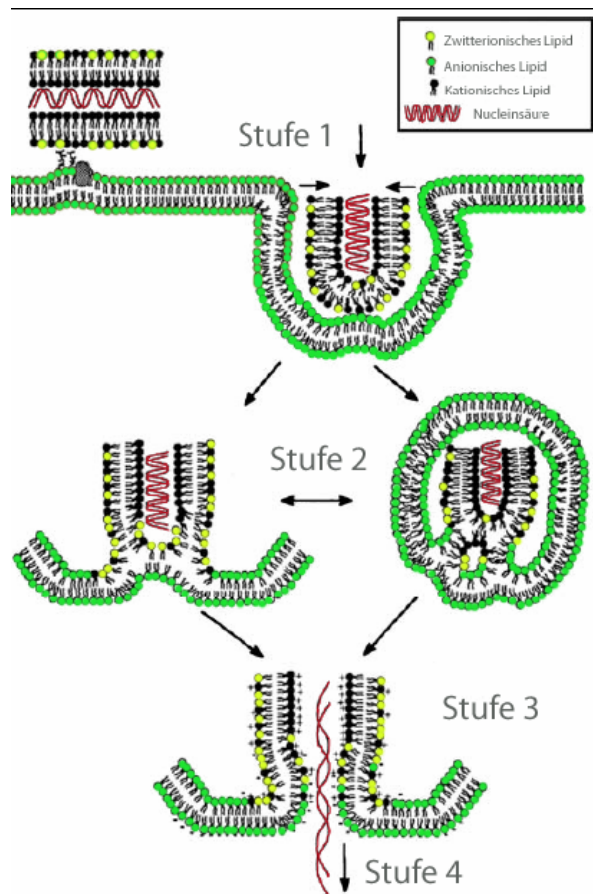


Abbildung 5: Mechanismus der DNA-Übertragung in die Zelle durch Lipofektion (Li und Szoka, 2007; Xu und Szoka, 1996)

Dabei kondensieren kationische Liposomen, bestehend aus Liposperminen, (Lipofectamine[®], Transfectam[®] oder Lipofectin[®]) mit der DNA zu einem kationischem Partikel (Stufe 1 in der Abbildung 5). Durch Interaktion der äußeren Lipidschicht, dieses Lipoplexes, mit der Zellmembran wird die DNA, wie in den Stufen 2-4 dargestellt, in die Zelle übertragen.

Eine dritte Möglichkeit DNA oder RNA in die Zelle einzubringen, besteht in der Verwendung kurzer elektrischer Impulse und wird als Elektroporation bzw. Elektrotransfektion bezeichnet (Chu et al., 1987; Neumann et al., 1982). Diese Technik wurde inzwischen bei einem breiten Spektrum tierischer und pflanzlicher Zellen, sowie an Bakterien erfolgreich angewendet. Bei dieser Methode wird durch das Anlegen eines (oder mehrerer kurz aufeinander folgender) elektrischen Impulses die Permeabilität der Zellmembran kurzfristig so erhöht, dass auch größere DNA-Moleküle in die Zellen eindringen können. Auch mit Hilfe der Mikroinjektion konnte mRNA in kultivierte menschliche Zellen eingebracht werden. Jedoch sind diese Methoden lediglich *in vitro* oder *ex vivo* möglich.

Manoharan *et al.* (Manoharan et al., 1997; Manoharan et al., 1997) konnten unter anderem zeigen, dass die zelluläre Aufnahme von RNA durch die Verknüpfung mit verschiedenen lipophilen Resten (Cholesterol, Glycoster, Alkylester) erhöht werden kann. Weiterführende Arbeiten von Soutschek und Manoharan (Soutschek et al., 2004) wiesen nach, dass lipophile siRNA (3'-Cholesterol-RNA) in *in vivo*-Versuchen an Mäusen die Reduktion der Target-mRNA (*Gensilencing*) hervorrufen, und zwar bedeutend stärker, als unkonjugierte siRNA. Den

gleichen Ansatz verfolgten auch Lorenz *et al.* (Lorenz et al., 2004) welche zur Bekämpfung des Hepatitis C-Virus verschiedene lipophile Anker am 5'-Ende von siRNA einführten und somit eine erhöhte Aufnahme in Leberzellen nachweisen und ebenfalls *Gensilencing* erzielen konnten.

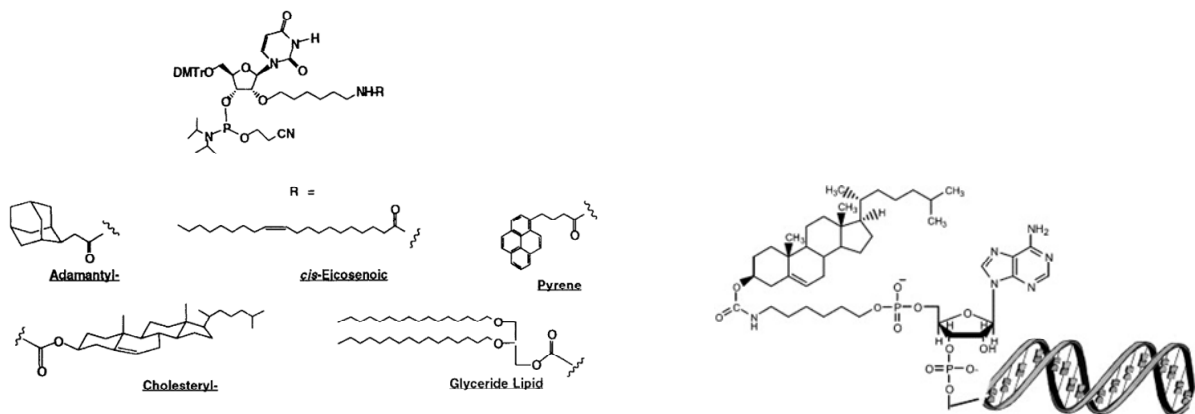


Abbildung 6: Lipophile Anker nach Manoharan *et al.* (Manoharan et al., 1997; Manoharan et al., 1997) (links) und Lorenz *et al.* (Lorenz et al., 2004) (rechts)

Die Grundidee der meisten Arbeiten auf diesen Gebiet bestand darin, die Nukleoside, Nukleotide oder Oligonukleotide mit einem lipophilen Rest zu versehen, um sie durch Membranen zu schleusen, damit sie besser als Wirkstoffe (NRTI) oder für die Antisense und RNAi-Therapie verfügbar sind.

1.3. Derzeitiger Stand der Forschung auf dem Gebiet der Nukleolipide

1.3.1. Synthese und Anwendung von Nukleolipiden

Eine Übersicht über frühere Synthesen von Nukleolipiden, ihre supramolekularen Eigenschaften und auch ihren biomedizinischen Anwendungsmöglichkeiten gab Rosemeyer (Rosemeyer, 2005). Doch in jüngster Zeit ist das Interesse auf diesem Gebiet sehr stark gestiegen, so dass es zu vielen weiteren Publikationen kam.

Neben den Einsatz von Nukleolipiden als Therapeutika, können lipophile Oligonukleotide ebenfalls in der Biochiptechnologie zur Analytik biologisch relevanter Substanzen genutzt werden. So brachten unter anderem Patolsky *et al.* (Patolsky et al., 2001) einen DNA-Strang über einen Thiollinker auf eine Goldoberfläche auf. An diesen konnte sich die nachzuweisende DNA komplementär binden, wobei ein Teil des Analytstranges ungebunden blieb („sticky end“). Ein „DNA-tagged-Liposom“, lagerte sich schließlich an diesem „sticky end“ komplementär an. Der Nachweis des Analyten erfolgte schließlich mittels FIS (*faradaic impedance spectroscopy*). Durch die Bindung des „DNA-tagged-Liposom“ an den Analyten, kommt es zu einer wirkungsvollen Abdeckung der Elektrodenoberfläche, so dass keine Redoxreaktion zwischen $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ ablaufen kann. Der Stromfluss ist somit unterbrochen (s. Abb. 7 A). Mit Hilfe der Microgravimetrie ließ sich eine weitere Erhöhung der Nachweisgrenze erzielen ($1 \cdot 10^{-13}$ M). Dabei bindet an dem DNA-Strang an der Goldoberfläche komplementär die nachzuweisende DNA, wobei ein Teil dieser ebenfalls ungebunden blieb („sticky end“). An diesem freien Ende bindet ein dritter mit Biotin markierter, komplementärer Strang. An das Biotin kann sich Avidin binden und daran ein biotinmarkiertes Liposom, an welches sich wieder Avidin binden kann usw.. Diese Gewichtszunahme kann mittels Microgravimetrie ermittelt werden (s. Abb. 7 B).

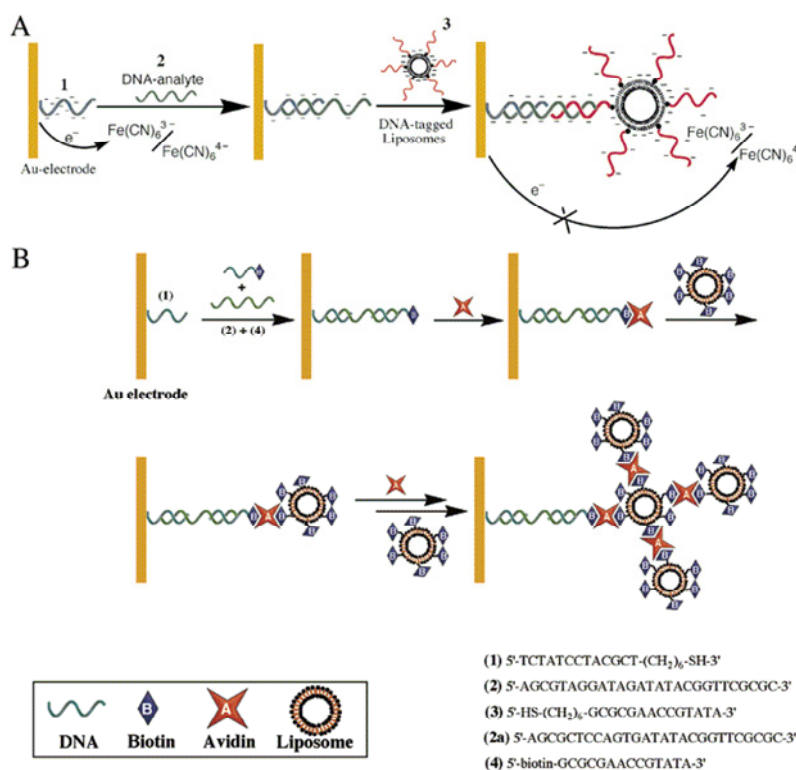


Abbildung 7: Signalverstärkung von DNA-Fragmenten (Patolsky et al., 2001)

Boxer *et al.* (Chan et al., 2007; Yoshina-Ishii und Boxer, 2003; Yoshina-Ishii et al., 2006; Yoshina-Ishii et al., 2005) immobilisierten lipophile „DNA-tagged-Vesicle“ an einer Glasoberfläche, indem sie diese über eine Doppelhelixbildung zweier komplementärer Oligonukleotide verbanden (s. Abb. 8). Dazu wurde die Glasoberfläche mit einer Phospholipiddoppelschicht versehen, in welchen die Oligonukleotidstränge mit terminalen Lipidanker A' verankerten. Diese hybridisierten mit dem komplementären Strang A der „tagged-Vesicle“.

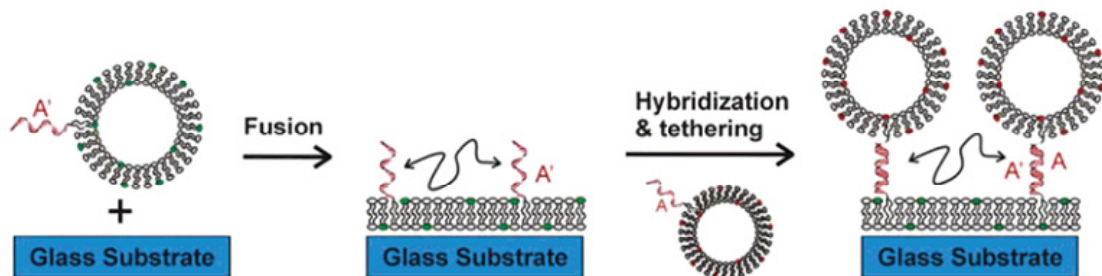


Abbildung 8: Schema des Verknüpfens funktionalisierter Vesikel auf Glass (Chan et al., 2007; Yoshina-Ishii und Boxer, 2003; Yoshina-Ishii et al., 2006; Yoshina-Ishii et al., 2005)

Da die Phospholipidmembran bei Raumtemperatur einem flüssigen Medium entspricht, können die Anker von lipophilen Oligonukleotiden (s. Abb. 9) zwischen zwei Liposomen wandern. Dieses Verhalten nutzen Jakobsen *et al.* (Jakobsen et al., 2008) aus, um mittels einer zugesetzten unmodifizierten DNA, Liposomen an einer „solid-supported-membrane“ zu binden. Durch die Bildung der Doppelhelix ist ein „Springen“ des lipophilen Ankers am Oligonukleotid inhibiert worden. Durch Erhöhung der Temperatur oberhalb der Schmelztemperatur des Duplexes, kommt es wieder zum Lösen des Liposomes von der „solid-supported-membrane“.

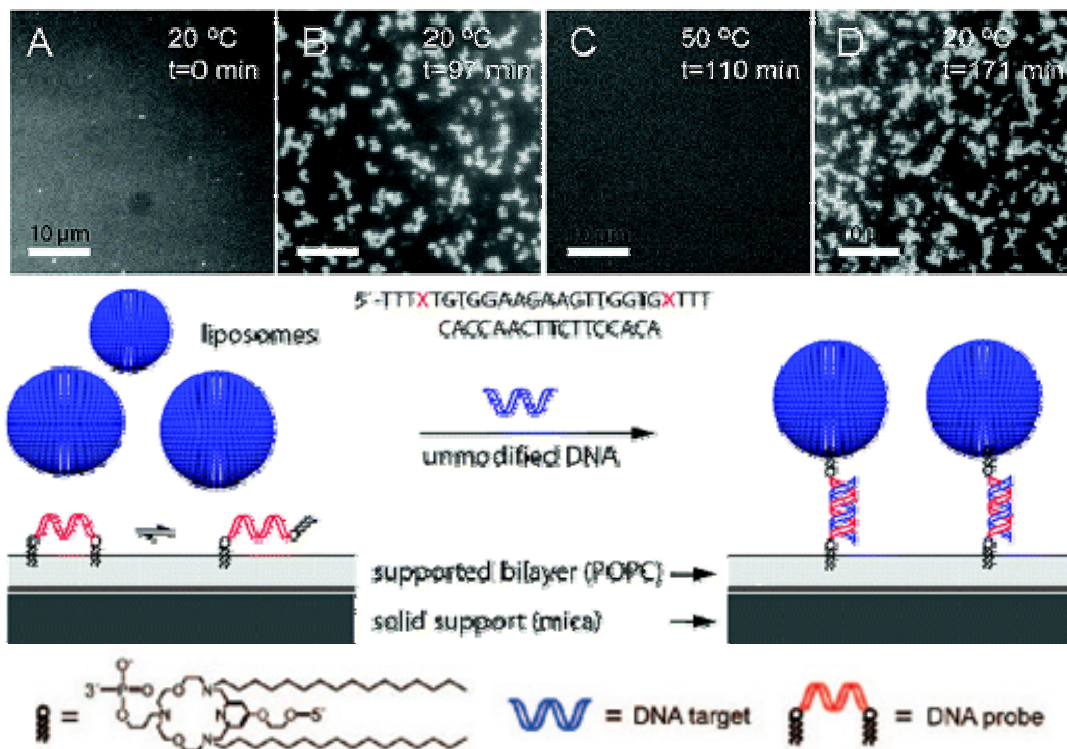


Abbildung 9: Schematische Darstellung des DNA-vermittelten Ankerns von Liposomen auf einer „solid-supported-membrane“ (Jakobsen et al., 2008) (A und B). Nachweis der thermischen Reversibilität (C and D)

Einen ähnlichen Ansatz verfolgten auch Pfeiffer *et al.* (Olofsson et al., 2003; Pfeiffer und Hook, 2004; Pfeiffer und Hook, 2006) zum Nachweis von Membranproteinen über gebundene Lipidvesikel. Dabei versahen sie eine Quarzoberfläche mit einer Lipidmembran, in welche zwei komplementäre lipophile ODNs (s. Abb. 10 oben) verankert sind und eine Goldoberfläche mit Biotin-BSA (*bovine serum albumin*)/ Neutravidin, in welche sich biotinylierte Oligonukleotide verankern können. Somit konnte durch die Wahl der unterschiedlichen Oberflächen Bereiche mit verschiedenen Oligonukleotiden geschaffen werden. Vesikel, welche bestimmte Peptidbindungsdomänen (wie Biotin) enthalten, werden mit zwei komplementären lipophilen ODNs versehen. Das „sticky End“ der „vesicleanchored-DNA“ kann entweder mit dem an der Quarz- oder der Goldoberfläche verankerten komplementären ODN eine Doppelhelix ausbilden (s. Abb. 10). Diese Helixbildung kann im Falle der lipidverankerten Oligonukleotide mittels der QCMD (*Quartz Crystal Microbalance Dissipation*) ausgelesen werden. Dabei wird die Quartzplatte in Schwingung gebracht, deren Frequenz massenabhängig ist. Bei Änderung der Masse, durch Binden des komplementären Stranges, wird eine Frequenzänderung beobachtet.

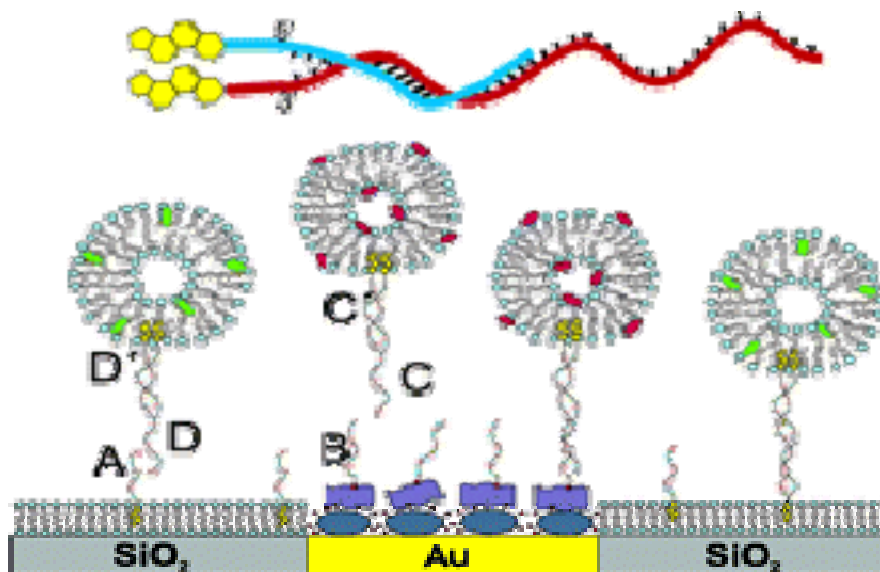


Abbildung 10: Verwendetes ODN und deren schematischen Darstellung zur unterschiedlichen Bindung von Vesikeln (Olofsson et al., 2003; Pfeiffer und Hook, 2004; Pfeiffer und Hook, 2006)

Die Insertierung solcher lipophiler Oligonukleotide mit einem Cholesteroltetraethylglycol-anker in Modellmembranen und die Hybridisierung mit komplementären Oligonukleotiden wurde von Banchelli *et al.* (Banchelli et al., 2008) mittels DLS-Messungen und der Elektrophorese nachgewiesen. Stengel *et al.* (Stengel et al., 2008; Stengel et al., 2007) entwickelten diese Methode weiter, um zwei Vesikel ähnlich der SNARE-Protein-vermittelten Zellfusion miteinander zur Hemifusion und auch zur Fusion zu bringen. SNARE-Proteine (*soluble N-Ethylmaleimid-sensitive factor attachment protein receptors*) spielen eine Schlüsselrolle in der Fusion von biologischen Membranen. Sie bestehen aus einem hydrophoben, transmembranen C-Terminus und dem SNARE-Motiv, einer wasserlöslichen N-terminalen Domäne. Um die Fusion zweier Vesikel zu ermöglichen, bilden diese zunächst unstrukturierten SNARE-Motive sehr stabile Komplexe (s. Abb. 11), welche jeweils aus 4 SNARE-Proteinen bestehen. Die Bildung dieses Komplexes geht vom N-Terminus aus und zieht sich wie ein Reißverschluss in Richtung C-Terminus. Dies hat eine Verringerung des Abstands zwischen den beiden sich abstoßenden Membranen zur Folge. Durch die starke Verringerung des Membranabstandes kommt es zu einer resultierenden

Hemifusion und anschließenden Fusion der Vesikel. Neben den SNAREs spielen auch Rab-Proteine eine Rolle bei der gerichteten Fusion von Vesikeln und Organellen.

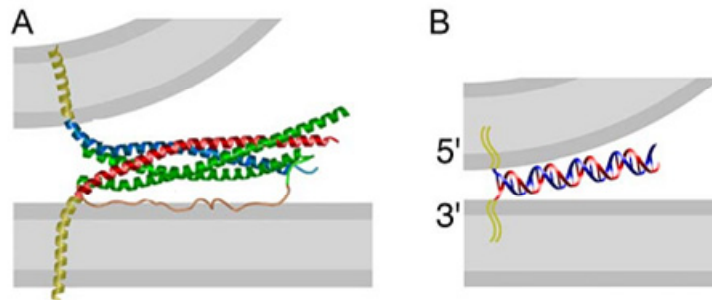


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Bindung von Vesikel an planaren Membranen durch A) SNARE-Proteine und B) lipophilen DNA-Doppelhelices (Chan et al., 2008)

In den Arbeiten von Stengel *et al.* wurden einzelne DNA-Stränge mit einem lipophilen terminalen Cholesterolrest als „Membrananker“ versehen, welche sich spontan in die Membran von Vesikeln einbauen. Zwei Vesikel-sorten werden mit unterschiedlichen DNA-Helices versehen, deren beide Stränge unterschiedlich lang sind und zueinander komplementäre freie Enden besitzen (s. Abb. 12). Befinden sich zwei derartige Vesikel in räumlicher Nähe, so erfolgt eine Hybridisierung zwischen den Strängen der Vesikel. Diese beginnt vermutlich, ähnlich der SNARE-Protein-vermittelten Zellfusion, an den äußeren terminalen DNA-Resten und zieht sich in Richtung des lipophilen Cholesterol-Restes fort. Auf Grund dessen werden die Membranen in nahen Kontakt zueinander gezogen und es kommt zu einer Fusion der beiden Vesikel. Somit ist es gelungen, mit DNA-Molekülen den Mechanismus der SNARE-Protein-vermittelten Zellfusion (Sutton et al., 1998) zu modellieren. Die Wahl von zwei Cholesterolgruppen als Lipidanker ist entscheidend für eine vollständige Fusion. Dadurch wird ein Wandern der Doppelhelix zwischen den Vesikeln verhindert (Stengel et al., 2008).

Boxer und Chan (Chan et al., 2008) nutzen ebenfalls diesen SNARE-analogen-Mechanismus, um ein Vermischen der Inhalte zweier unterschiedlichen Vesikel nach der Fusion hervorzurufen.

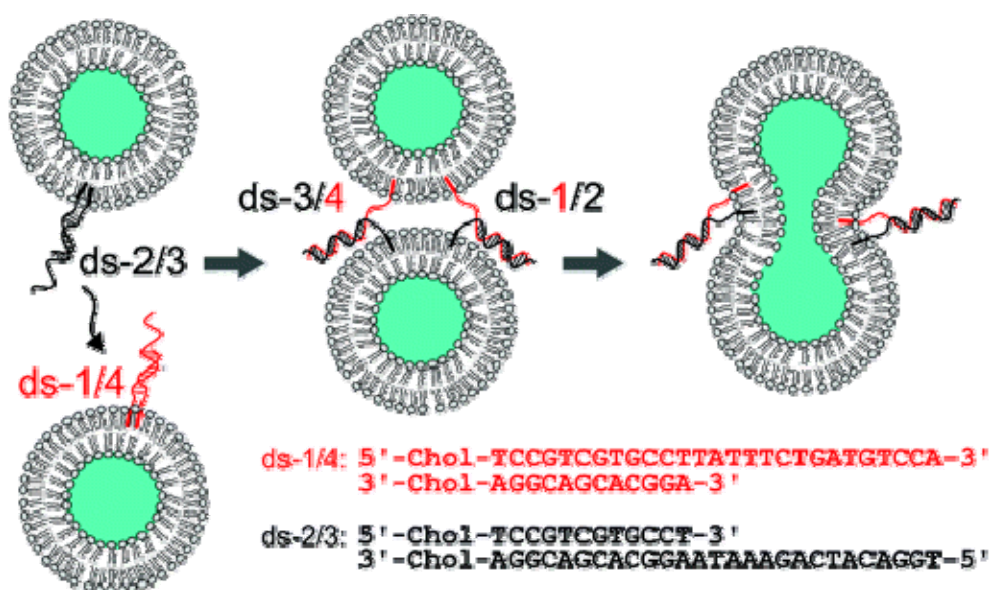


Abbildung 12: DNA induzierte Vesikelfusion (Stengel et al., 2008; Stengel et al., 2007)

Eine weitere Möglichkeit siRNA an Vesikel zu binden und in Zellen zu transportieren, wurde kürzlich von Kim *et al.* (Kim et al., 2008) vorgestellt (s. Abb. 13). Dabei nutzen sie die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen dem negativ geladenen Phosphatrückgrat des Oligonukleotides und einem von Cholesterol abgeleiteten quartären Ammoniumsalz. So bildeten sie aus den Lipidbestandteilen des Lipoproteins LDL und aus DC-Cholesterol (Gao und Huang, 1991) ein positiv geladenes Nanopartikel, an das sich die siRNA bindet.

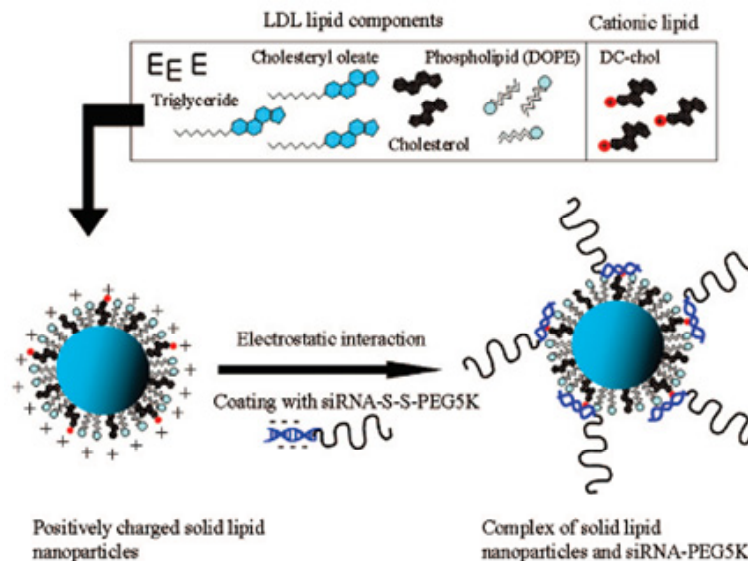


Abbildung 13: Schema des dargestellten Lipidmembrans aus Lipidbestandteilen des Lipoproteins LDL und des DC-Cholesterol und der anschließenden elektrostatischen Wechselwirkung mit der siRNA (Kim et al., 2008)

Einen ähnlichen Schritt gingen Nielsen und Shiraishi (Shiraishi et al., 2006), welche PNA mit lipophilen Gruppen, wie Acridin, Pyren, Anthrachinon, Porphyrin usw. endständig versahen und mit Hilfe von kationischen Liposomen in Zellen einschleusen konnten. Auch Vemille *et al.* (Vernille et al., 2004) funktionalisierten PNA mit lipophilen Resten am Ende, um ihre Membrandurchgängigkeit zu erhöhen und um supramolekulares Verhalten an diesen Amphiphilen zu beobachten. Prata *et al.* (Prata et al., 2008) setzten lipophile Peptide ein, welche in wässriger Umgebung Liposomen mit nur einer Lipiddoppelschicht bilden können, um so im Inneren der Liposomen siRNA in Zellen einzuschleusen. Bijsterbosch *et al.* (Bijsterbosch et al., 2002; Bijsterbosch et al., 2000; Rump et al., 1998) bedienten sich LDL als Transporter für eine Reihe von lipophilen onkogen gerichteten Antisense-Oligosträngen, welche in Zellen eingebracht werden sollen. Dazu verknüpften sie verschiedene lipophile Reste (Ölsäure, Cholansäure, Lithocholsäure, Chenodesoxycholsäure) an das 3'-Ende des Oligonukleotides (s. Abb. 14).

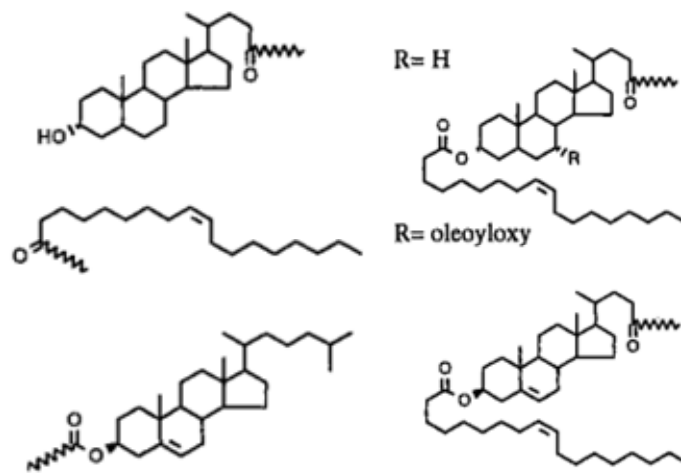


Abbildung 14: Verwendte Lipidanker (Bijsterbosch et al., 2002; Bijsterbosch et al., 2000; Rump et al., 1998)

Zusätzlich zu den bereits erwähnten Arbeiten von Unverzagt *et al.*, die 5'-cholesterolmodifizierte siRNA einsetzten, um Gensilencing zu erzielen (s. Abs. 1.1), zeigten Arbeiten von Manoharan *et al.* (Manoharan, 2004; Manoharan et al., 1992) und Wolfrum *et al.* (Wolfrum et al., 2007), dass Oligonukleotide welche mit solchen Anker, wie Cholesterol oder längerkettigen Fettsäuren an 3'-Position verknüpft sind, siRNA *in vivo* in verschiedene Zellgruppen transportieren können und dort Gensilencing hervorrufen. Dabei stellte sich heraus, dass die Verwendung von phospholipid- und cholesterolreichen Lipoproteinen, wie LDL oder HDL, in denen der lipophile Rest verankert ist, entscheidend für den Transport der siRNA sind.

Mittels sogenannter „Antagomirs“ (Krutzfeldt et al., 2005) ließen sich ebenfalls *in vivo* Gene ausschalten. Diese cholesterolkonjugierte ssRNA (s. Abb. 15) bindet dabei gezielt an die microRNA (miR-122) und greift somit in deren Expression ein. Interessanterweise regelte sie dabei nicht nur einige Gene ab, sondern aktivierte auch einige.

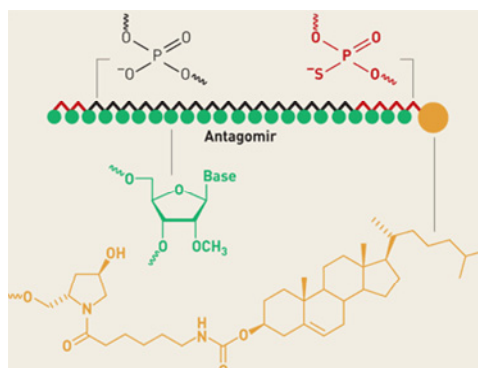


Abbildung 15: Struktur des „Antagomirs“ (Krutzfeldt et al., 2005). Die 2'-Hydroxylgruppe der Ribose wurde durch eine Methoxygruppe ersetzt und einige der Phosphordiesterverknüpfung durch das Phosphorthioat

Die Arbeitsgruppe um Ahn *et al.* (Ahn et al., 2004) synthetisierten eine DNA, welche am 5'-Ende Fluorescein markiert war und am 3'-Ende einen Cholesterolrest trug. Dieses 25mer wurde verwendet um nachzuweisen, ob die Bindung des Cholesterols oder eher das Polyanionphosphatrückgrat des Oligonukleotides ausschlaggebend ist für die Inhibierung des HIV-1. Letztendlich zeigte sich, dass beide Faktoren eine wichtige Rolle in der Inhibierung spielen. Das Oligonukleotid bindet an die Zelle, wegen des lipophilen Restes und das Polyanionphosphat-

rückgrat verhindert eine Fusion der Zelle mit dem HIV-1 aufgrund elektrostatischer Wechselwirkung. Die Zugabe von DEAE (Diethylaminoethyl)-Dextran verringerte den inhibitorischen Effekt des ODN, denn bekanntermaßen erhöht DEAE-Dextran die Transfektionseffizienz von viraler DNA in Zellen (Mccutcha.Jh und Pagano, 1968). Arbeiten von Sugawara *et al.* (Shohda und Sugawara, 2006; Shohda et al., 2003) nutzen ein Cholesteryl-PEG-Phosphoramidit und zeigten, dass dieses in die Membran von GUVs inkorporiert und komplementäre DNA bindet. Mittels TritonX-100 konnte eine Fusion der GUVs hervorgerufen werden (Maru et al., 2008).

Viele Gruppen (Alam et al., 2008; Krieg et al., 1993; Lorenz et al., 2004; Manoharan, 2002; Wolfrum et al., 2007) konnten zeigen, dass cholesterolgelabelte Oligonukleotide an Zellen binden können und auch die Infektion von HIV-1 in Zellen inhibieren können (Farooqui et al., 1991). Mittlerweile hat sich die Arbeit von 3'- oder 5'-cholesterylmodifizierten ODN für Antisense oder siRNA therapeutische Zwecke soweit etabliert, dass man die für die Festphasensynthese benötigten Cholesteryl-TEG-Phosphoramidite und auch andere lipophile Phosphoramidite, käuflich erwerben kann (*MedProbe*, *Glen Research*, *Eurogenetec*). Nichtsdesto trotz ist es notwendig an weiteren lipophilen Ankern zu forschen, welche unter Umständen eine stabilere Membranverankerung hervorrufen.

Einen anderen Weg zur Darstellung von lipophiler ODN als Arzneistoff ging die Gruppe um Chillemi *et al.* (Chillemi et al., 2006), welche postsynthetisch ein Oligonukleotid enzymatisch mit einer Fettsäure verknüpften. Das Glycerol an der 5'-Position wurde dabei durch die Phosphoramiditsynthese eingeführt.

1.3.2. Verhalten von Nukleolipiden an Phasengrenzflächen

In der Literatur wurde schon mehrfach beschrieben und auch nachgewiesen, dass bestimmte amphiphile Oligonukleotide und auch Nukleolipide in Membranen binden können (Lorenz et al., 2004; Rosemeyer, 2005; Scheidt et al., 2004). Oft blieb jedoch die Frage offen, ob das gebundene Oligonukleotid oder Nukleolipid mit komplementären Nukleinsäuren oder Oligonukleotiden Doppelstränge bilden kann.

In wässriger Umgebung sind die Nukleobasen von Wassermolekülen umgeben, was eine spezifische Base–Basen–Erkennung erschwert. Aus diesem Grunde werden solche Untersuchungen in nichtwässriger Umgebung durchgeführt oder in sogenannten „hydrophoben Käfigen“. Wohingegen bei der Duplexbildung der DNA die Anwesenheit von Wasser entscheidend ist. Der Grund hierfür liegt darin, dass die Wassermoleküle die elektrostatischen Wechselwirkungen des Phosphatrückgrates mit ihrem hohen Dipolmoment abschirmen. Die Basenpaarung selbst findet im Inneren der DNA statt, wo sich kaum Wassermoleküle befinden. Ahlers *et al.* (Ahlers et al., 1990) studierten an einer Reihe von Nukleolipiden die Orientierung und Erkennung an einer Luft–Wasser–Oberfläche an Langmuirfilmen. Alle untersuchten Nukleolipide bildeten stabile Monolayer. Dabei übte die Kopfgruppe (Nukleobase, Nukleosid) keinen Einfluss auf die Packung aus. Weiterhin wurde an lipophilen Uridinderivaten untersucht, ob die Nukleolipidmonolayer auch für eine Base–Basen–Erkennung von einzelnen Nukleosiden (s. Abb. 16) bzw. von Nukleotidsträngen (s. Abb. 17) in der Lage sind. Bei Messungen mit komplementärem Adenin konnten sie eine Wechselwirkung feststellen, aufgrund der Tatsache, dass sich die Packungsdichte des Monolayers verringerte. Auch nahm die Fläche pro Nukleolipid im Film stärker ab, als bei der Zugabe des nicht komplementären Thymidins. Bei Messungen mit poly(U) (s. Abb. 17) zeigte sich eine Wechselwirkung zwischen dem Nukleolipid und dem zugegebenen Oligonukleotidstrang, da sich bei Erhöhung des Oberflächendruckes, die Packungsdichte weniger stark verringert, als ohne Zugabe des komplementären Partners. Jedoch konnten die Autoren nicht erklären, ob die Wechselwirkungen über Wasserstoffbrückenbindungen oder über π -Stacking hervorgerufen werden.

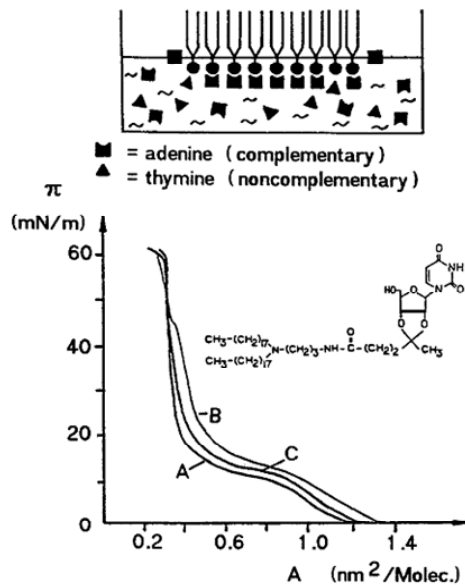


Abbildung 16: Oberflächendruck-Flächendiagramm des Uridinanaloga in einer Lösung von Monomeren bei 20°C A) kein Base; B) Adenin (0.01 mol/l); C) Thymin (0.01 mol/l)

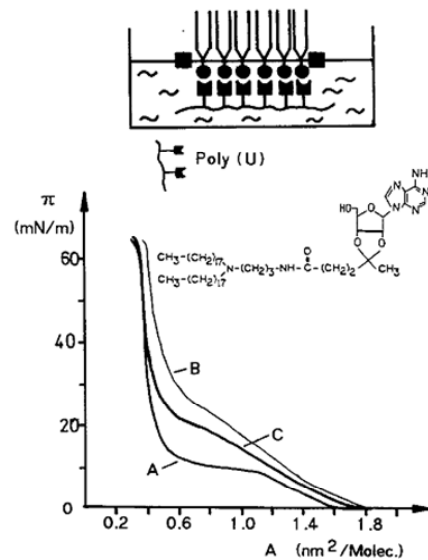


Abbildung 17: Oberflächendruck-Flächendiagramm des Adeninanaloga in einer Lösung mit Poly(U) bei 20°C PBS-Buffer Lösung ($1.5 \cdot 10^{-3}$ mol/l, pH 7.4) wurde für die Poly(U)-Phase verwendet A) keine Base; B) Poly (U) ($1.5 \cdot 10^{-5}$ mol/l); C) Poly (A), ($1.5 \cdot 10^{-5}$ mol/l)

In Arbeiten von Miao *et al.* (Huang *et al.*, 2000; Miao *et al.*, 2003) bzw. Kunitake *et al.* (Ariga und Kunitake, 1998; Kawahara *et al.*, 1992) konnten Wechselwirkungen zwischen Nukleolipiden und ihren komplementären Basen an der Luft-Wasser-Oberfläche über Wasserstoffbrückenbindungen nachgewiesen werden. Daraufhin untersuchten Cruciani *et al.* (Cruciani *et al.*, 2004) anhand von MLVs, welche POP-Cytidin und POP-Inosin beinhalten, mittels HRMAS-NMR, ob sich innerhalb der Lipidmembran schon eine Watson-Crick-Basenpaarung ausbilden kann. Es stellte sich heraus, dass dem nicht so war (s. Abb. 18). Die Autoren wiesen aber auch darauf hin, dass Liposomen nicht einem chemischen Gleichgewicht entsprechen, sondern eher als kinetische Fallen angesehen werden sollten, in deren Strukturen stabilisiert, separiert und so vor einer Änderung in einer energetisch ähnlichen konformellen Struktur geschützt werden.

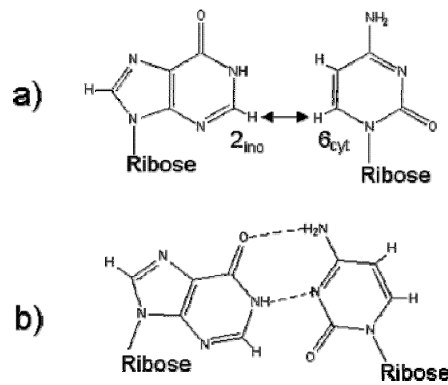


Abbildung 18: Beobachtete Wechselwirkung zwischen den Proton 2_{Ino} und 6_{Cyt} durch (a) die nachgewiesenen Kreuzpeaks im 2D-NOESY-HR-MAS-NMR Spektrum, (b) Schema der klassischen Watson-Crick-Basenpaarung (Cruciani et al., 2004)

Nowick *et al.* (Nowick et al., 1993; Nowick et al., 1993) nutzen elektrostatische Wechselwirkungen, um die molekulare Erkennung von A-T Paaren in einer Mizelle zu untersuchen. Dabei synthetisierten sie (10-(1-Thyminyl)decyl)trimethylammoniumbromid und inkorporierten dieses in einer Mizelle bestehend aus SDS (*sodium dodecyl sulfate*). Mittels NMR-Titration mit Adenin, konnten sie eine Basenpaarung beobachten.

Arbeiten von Berndt *et al.* (Berndt et al., 1995) oder Pincet *et al.* (Pincet et al., 2001) konnten in verschiedenen Versuchsreihen mit lipophilen Derivaten von Nukleosiden die auftretenden Kräfte während den Wechselwirkungen nachweisen und messen. Dabei wurden die Nukleolipide als Langmuir-Blodgett-Schichten auf Glimmer-Oberflächen (Mica) aufgetragen. Die Bestimmung der Anziehungskräfte geschieht durch Messung der Kräfte zwischen den Schichten bei unterschiedlichen Abständen und anschließender Trennung der Basenpaare. Werden beide Oberflächen einander genähert, so entstehen erst ab einem Abstand von $D < 60$ nm Anziehungskräfte zwischen den Schichten. Diese Kräfte verursachen eine schnelle Abnahme des Abstandes auf $D = 8.5$ nm zwischen den Nukleobasen. Anschließend ist eine Abflachung der gebogenen Schichten bei einer Distanz von 4.5 nm zu beobachten. Der Abstand verringert sich abschließend nochmals auf 2 nm zwischen den komplementären Nukleobasen. Die Trennung der Basenpaare erfolgt erst bei einer Energie von 110 mN/m.

1.3.3. Supramolekulares Verhalten von Nukleolipiden

Die Assoziation von Molekülen zu übergeordneten Strukturen, wie u.a. Mizellen, Vesikeln, Gelen und Monolayern bezeichnet man als supramolekulares Verhalten. Auch Nukleolipide können, aufgrund ihres amphiphilen Charakters dieses Verhalten aufweisen (Berti, 2006).

Barthelemy *et al.* (Barthelemy *et al.*, 2005; Gissot *et al.*, 2008; Moreau *et al.*, 2004; Moreau *et al.*, 2006; Moreau *et al.*, 2006) und auch andere Gruppen (Berti *et al.*, 1999; Yanagawa *et al.*, 1989) konnten zeigen, dass Nukleolipide unter bestimmten Bedingungen ähnlich der DNA oder RNA helikale Stränge (s. Abb. 20) ausbilden können.

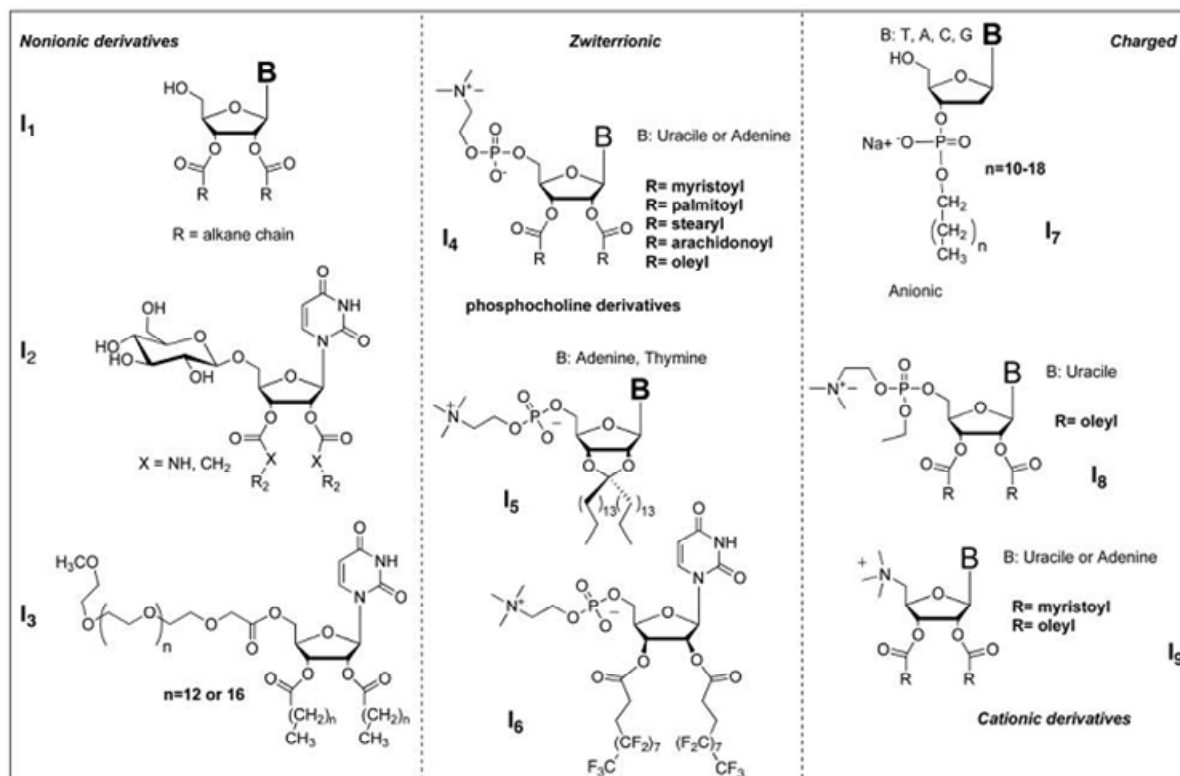


Abbildung 19: Einige Beispiele synthetischer Nukleolipide (Barthelemy *et al.*, 2005; Gissot *et al.*, 2008; Moreau *et al.*, 2004; Moreau *et al.*, 2006; Moreau *et al.*, 2006)

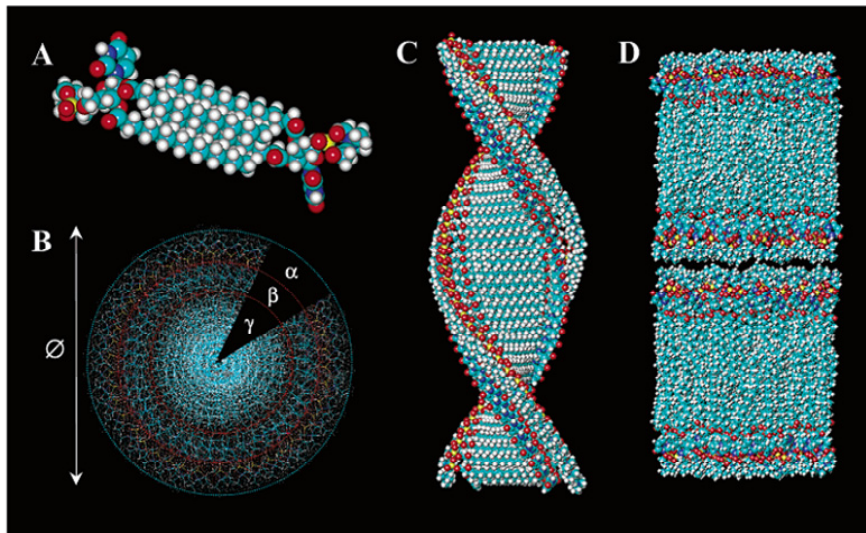


Abbildung 20: Model, welches die DNA-ähnliche helikale Struktur von DPUPC (I_4) in Wasser zeigt a) zwei Moleküle DPUPC, die die Grundeinheit der helikalen Struktur bilden; b) Blick von oben auf den in c) dargestellten Strang (α ist dabei der hydrophile Phosphocholinrest, β die Uridineinheit und γ der hydrophobe Kern; d) Schemata der multilamellaren Selbstorganisation

Ebenfalls solch eine Helixbildung beobachteten Aime' *et al.* (Aime et al., 2007) mittels TEM; SEM und optischer Mikroskopie an Nukleotiden, welche in elektrostatische Wechselwirkungen mit tertiären, lipophilen Aminen getreten sind.

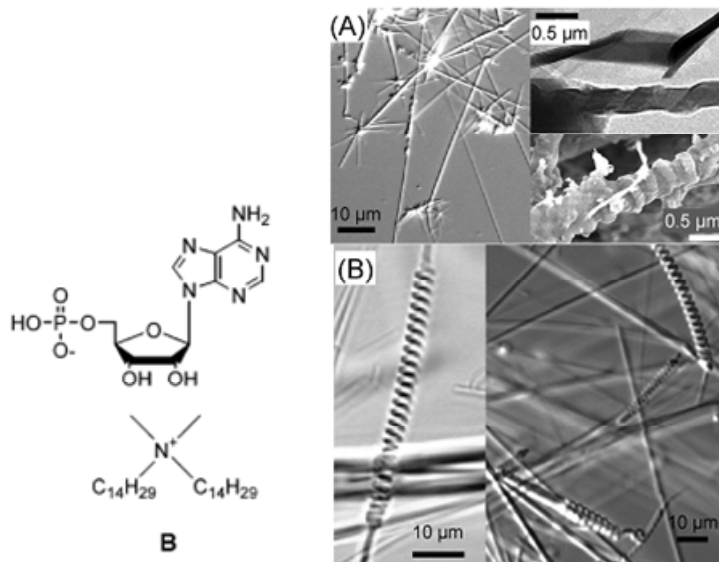


Abbildung 21: (A) Optische Mikroskopie (links oben), TEM (rechts oben) und SEM (rechts oben) – Bilder von linksgängiger Helicesbildung in reinen Wasser, durch Selbstaggregation von C_{14} AMP (Struktur links). (B) Nach 3-4h beobachtete Helixbildung aus den feinen Nadeln (Aime et al., 2007)

Weiterhin wies die Gruppe um Barthelemy *et al.* (Campins et al., 2007) die Ausbildung von bandähnlichen Strukturen von Nukleolipiden mittels TEM, SEM, FT-IR und auch X-Ray Diffraction nach (s. Abb. 22). Dabei synthetisierten sie verschiedene 3'-Alkylphosphat-2'-desoxynukleoside, welche in einen wässrigen Medium

kollodial dispersiert wurden und die erwähnten supramolekularen Strukturen bildeten. Jüngste Arbeiten von Iwaura *et al.* (Iwaura et al., 2007; Iwaura et al., 2003) zeigten, dass auch bolaamphiphile Nukleoside zur Ausbildung bandähnlicher Strukturen fähig sind.

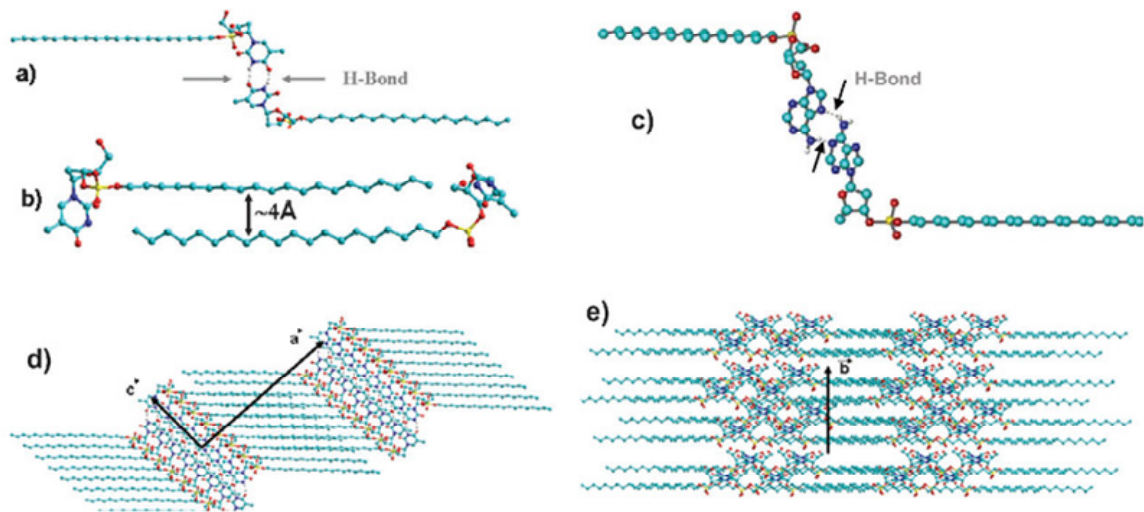


Abbildung 22: Modell für die Ausbildung von Bandstrukturen (Campins et al., 2007) a) Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Thymin; b) Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den lipophilen Ketten; c) Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Adenosin; d) und e) 3D Strukturen der beobachteten Bänder

An Nukleolipiden (Moreau et al., 2005), wie auch an ODN kann es darüber hinaus zur Ausbildung von Vesikeln kommen. So synthetisierte die Gruppe um Teixeira *et al.* (Teixeira et al., 2007) ein Nukleocopolymer, welches aus einem Oligonukleotid mit einer endständigen Polybutadieneinheit (MW = 2000 Da) besteht. Diese bildet in wässriger Umgebung Vesikel. Maruyama *et al.* (Maruyama et al., 2007) nutzen dieses Verhalten der Bildung von Vesikeln, um *target*-ssDNA mit Hilfe einer reversen Mizelle aus einer organischen Phase zu extrahieren. Dabei wurde ein lipophiler Anker an das 5'-Ende eines Oligonukleotides geknüpft. Dieses Konstrukt formte mit DLPC in Hexanol oder Butanol reverse Mizellen. Im Inneren jener Mizelle bildete das Oligonukleotid mit der *target* ssDNA (20mer–52mer), welche einen Fluoreszenzmarker am 5'-Ende enthält, eine Doppelhelix. An der Phasengrenzfläche zum Wasser öffnete sich die Mizelle wieder und die ssDNA wird in die wässrige Phase entlassen, was durch die Fluoreszenz des wässrigen Mediums nachgewiesen werden konnte.

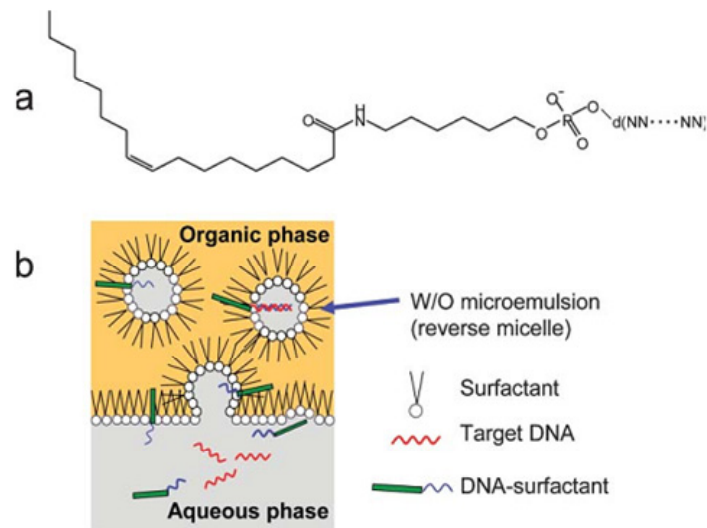


Abbildung 23: Schematische Darstellung der Extraktion von ssDNA mit Hilfe einer reversen Micelle nach Goto *et al.* (Maruyama *et al.*, 2007) a) verwendeter lipophiler Anker; b) Extraktions-Schritt

All diese Beobachtungen basieren zum einen auf dem Ausbilden von lipidähnlichen Strukturen durch den lipophilen Rest und/oder von Wasserstoffbrückenbindungen durch die Nukleobase. Viele Arbeiten von Berti *et al.* (Baglioni und Berti, 2003; Banchelli *et al.*, 2007; Berti *et al.*, 1997; Berti *et al.*, 2000; Berti *et al.*, 1999; Berti, 2006; Bombelli *et al.*, 2002; Fortini *et al.*, 2004; Milani *et al.*, 2007; Milani *et al.*, 2008) untersuchten dieses Verhalten der molekularen Erkennung zwischen Nukleolipiden untereinander und Nukleolipiden mit Oligonukleotiden. Dabei zeigte sich, dass auch elektrostatische Wechselwirkungen (kationische Amphiphile und anionische DNA) einen gewissen Anteil zur Ausbildung von supramolekularen Strukturen beitragen können, aber nicht unbedingt notwendig sind, wie das nachfolgende Beispiel belegt. Mittels DLS (*dynamic lightscattering*) und auch SANS (*small angle neutron scattering*) konnten Berti *et al.* (Banchelli *et al.*, 2007) nachweisen, dass sich um einen PolyU-Strang Mizellen aus lipophilen Adenin anordnen und diesen Strang anschließend zu einer Superstruktur verknäulen lässt (s. Abb. 24).

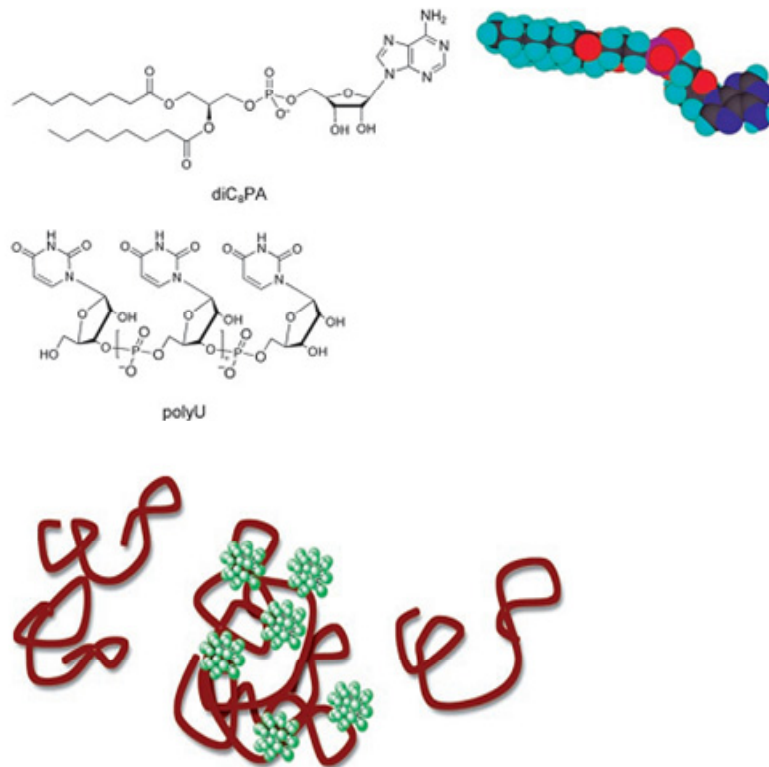


Abbildung 24: Struktur des Dioctanoylphosphatidyladenosin (oben links) ,des ODN (polyU) und deren vorgeschlagenes Model der erhaltenden Superstruktur (Banchelli et al., 2007)

Ein weiteres supramolekulares Verhalten der Nukleolipide ist seit jüngster Zeit auch in der Bildung von Gelen beobachtet worden (Rosemeyer et al., 2007). Dabei gruppieren sich die einzelnen Moleküle zu einem Netzwerk, in welchen Lösungsmittelmoleküle eingeschlossen sind. Handelt es sich bei dem Lösungsmittel um Wasser, so spricht man von Hydrogelen. Ein bekanntes Beispiel für diese Hydrogele sind Substanzen, sogenannte Superabsorber, welche in Windeln eingesetzt werden. Weiterhin werden Hydrogele in der Medizin und Medizintechnik (Kontaktlinsen, gesteuerte Freisetzung von Medikamenten), in der Elektroindustrie (elektrolytische Gele), der Landwirtschaft (gesteuerte Nährstofffreisetzung), sowie der chemischen Industrie (Trennsysteme) und der Sensortechnik (pH-Wert-Messung) eingesetzt. In der Medizin wird zum Beispiel ein Wirkstoff mit einem bereits gequollenem Hydrogel versetzt. Nach oraler Einnahme und dem Kontakt mit der Magensäure reagiert das pH-empfindliche Hydrogel durch Abgabe der Flüssigkeit und gibt somit auch das Medikament in den Magen ab. Wandert es weiter in den Darm, nimmt das Hydrogel dort durch den veränderten pH-Wert Flüssigkeit auf und quillt dadurch auf, wodurch die Abgabe des Wirkstoffes gestoppt wird. Das Hydrogel wird letztendlich vom Körper ausgeschieden.

Park *et al.* (Park et al., 2003) konnten zeigen, dass die von ihnen synthetisierten Nukleolipide bei 0.2 wt-% Hydrogele bilden und mittels SEM auch die entstandenen supramolekularen Strukturen nachweisen.

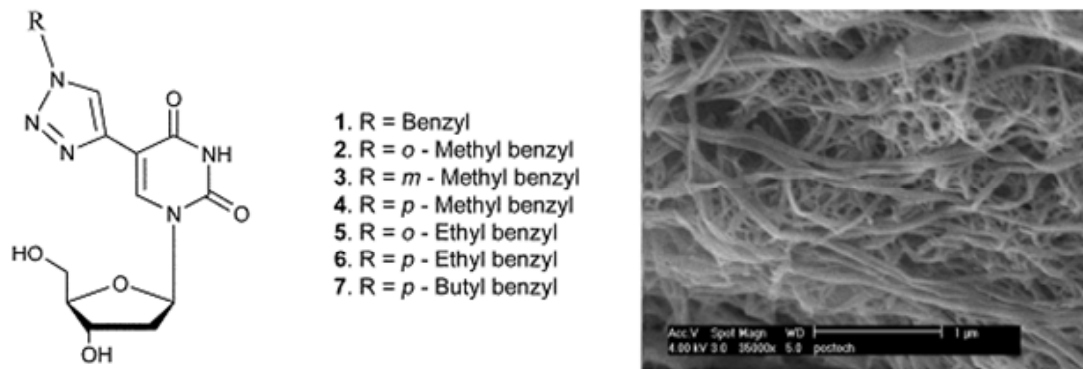


Abbildung 25: SEM-Bild des Hydrogels bei 0.2 wt-% des Nukleolipides in Wasser von Kim *et al.* (Park et al., 2003)

Die Bildung von Organogelen durch Phosphocholinnukleolipide (DPUPC), wurde auch von Barthelemey *et al.* (Moreau et al., 2004) anhand von SEM und DSC-Messungen nachgewiesen. Die geringste Konzentration des Nukleolipides, um noch eine Organogelbildung zu beobachten, stellte sich bei 6 wt-% in Cyclohexan heraus. Es konnte gezeigt werden, dass eine Verlängerung der Alkylkette zu keiner Organogelbildung führt, da sich dann das Nukleolipid in Cyclohexan löst. Aufgrund des hydrophilen Charakters bildet dieses Phosphocholinderivat auch ein Hydrogel bei einer Konzentration von 6 wt-%.

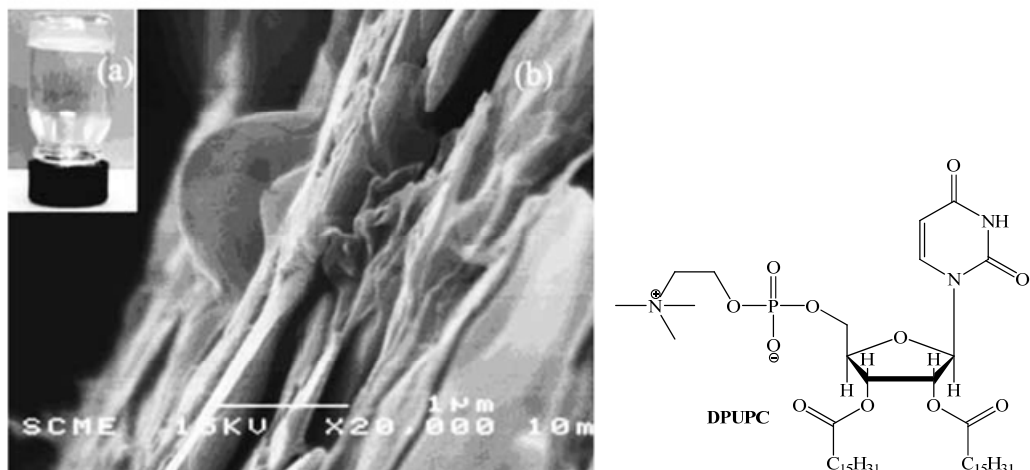


Abbildung 26: a) Fotografie und b) SEM-Bild des DPUPC- (rechts) Organogels (Moreau et al., 2004)

1.4. Aufgabenstellung – Warum 2'-Nukleolipide

Die gegenwärtige intensive Forschung auf dem Gebiet der Synthese von Nukleolipiden, zeigt die Bedeutung dieser Stoffe sowohl in grundlagenorientierter als auch in praktischer Sicht. Bislang ist allerdings nur ein kleiner Teil der strukturellen Vielfalt dieser Stoffklasse erforscht worden. Sowohl für das supramolekulare Verhalten, als auch für das Vermögen mit Lipidmembranen zu wechselwirken ist die Art, Anzahl und die Verknüfungsposition der Lipidanker an den Nukleosiden bzw. den Oligonukleotiden von großer Bedeutung. Wie jedoch in den vorigen Abschnitten dargelegt, wurden in den bisherigen Arbeiten die Modifikationen meist an der Nukleobase (Kurz et al., 2006; Scheidt et al., 2004), wie auch an der 3'- oder 5'-Position (Ahn et al., 2004; Kaczmarek et al., 2008; Pfeiffer und Hook, 2004; Pincet et al., 2001; Soutschek et al., 2004) vorgenommen. Was vor allem daran liegt, dass diese Modifikationen im ersten Fall auch an der Festphase während oder im letztgenannten Fall nach der Oligonukleotidsynthese möglich ist (Alemdaroglu und Herrmann, 2007; Manoharan et al., 1995; Tosquellas et al., 1998).

Das Augenmerk dieser Arbeit richtet sich daher aus mehreren Gründen auf eine Derivatisierung des Nukleosides an der 2'-Position (Zatsepin et al., 2004; Zatsepin und Oretskaya, 2004; Zatsepin et al., 2004). Einen Übersichtsartikel über Synthesen von 2'-Nukleosiden gaben Zatsepin *et al.* (Zatsepin et al., 2004). Jedoch fanden sich darunter nur sehr wenige Beispiele von Nukleolipiden mit 2'-fixierten Lipidanker (Manoharan et al., 1991; Manoharan et al., 1997; Manoharan et al., 1995; Stetsenko et al., 2000).

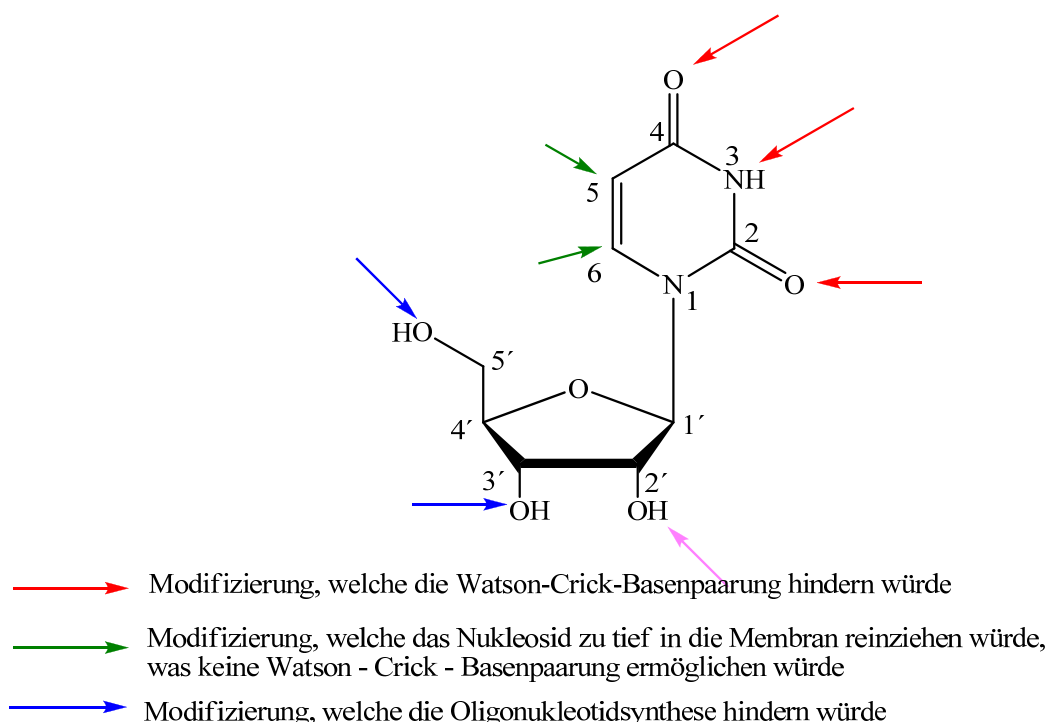


Abbildung 27: Möglichkeiten der Derivatisierung von Nukleosiden und deren Auswirkungen auf die Oligonukleotidsynthese und die Watson-Crick-Basenpaarung

Ein Grund liegt darin, dass das erhaltene Nukleolipid, wenn es in die Zellmembran eingebracht wird, zur molekulare Erkennung mit anderen Nukleosiden, Nukleotiden oder Oligonukleotiden über die Watson-Crick-Basenpaarung zu Verfügung stehen soll. Nun haben bisherige Versuche in unserem Arbeitskreis hingegen gezeigt

(Scheidt et al., 2004), dass das Nukleolipid, wenn es an der Nukleobase mit einem lipophilen Rest derivatisiert worden ist, zu tief in der Membran verankert ist und keine Basenpaarung mehr ermöglicht wird (s. Abb. 28).

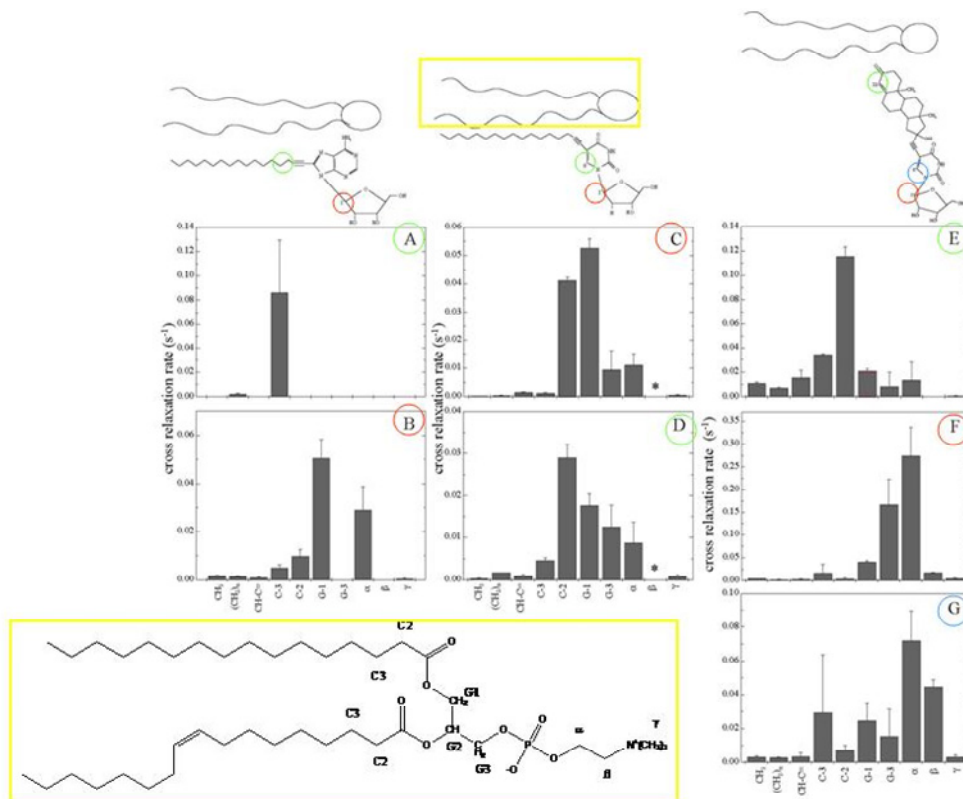


Abbildung 28: Tiefenposition der Nukleolipide in POPC mittels Kreuzrelaxationsmessungen bestimmt (Kurz et al., 2006)

Ein weiterer Grund liegt darin, dass das erhaltene Nukleolipid in sein Phosphoramiditanalogon überführt werden soll und dann über die Phosphoramiditsynthese in ein Oligonukleotid eingebaut wird. Viele der bisherigen Arbeiten führten dabei den lipophilen Rest am Ende oder am Anfang des DNA-Stranges ein. Infolgedessen ist es jedoch nicht möglich, die Position des lipophilen Nukleotides in denselben Strang zu variieren. Die Einführung des lipophilen Restes an 2'-Position würde es aber ermöglichen, den lipophilen Anker zwischen zwei relevanten Teilsequenzen eines Oligonukleotides zu bringen, die dann jede einen Doppelstrang ausbilden können (s. Abb. 29). Diese zwei verschiedenen DNA-Sequenzen, welche jeweils ein funktionelles Molekül tragen könnten, sind vielfältig einsetzbar. Zum einen könnte man an Ihnen, durch die Bindung von Enzymen an den Enden des DNA-Stranges, sogenannte Multi-Enzym-Komplexe erzeugen, an denen eine mehrstufige katalytische Synthese eines Substrates durch die kurzen Diffusionswege beschleunigt wird. Zum anderen kann man durch das Verknüpfen des einen DNA-Stranges mit einem Reporter-Fluorophor und des anderen mit einem Quencher *Molecular Beacons* erzeugen. In diesem als *stem loop* (=Stamm-Schleife) bezeichneten Zustand zeigt der Reporter durch seinen geringen Abstand zum Quencher keine Fluoreszenz. Durch Anlagerung der membranverankerten Schleifen-Region an eine komplementäre DNA-Sequenz (Analyt-DNA), wird der Abstand zwischen Quencher und Reporter vergrößert. Eine Reporter-Fluoreszenz kann somit beobachtet werden. Arbeiten von Kim et al. (Kim et al., 2004) zeigten die Ausbildung von *Hairpin*-Strukturen durch lipophile Oligonukleotide an Membran-

nen. Dazu wurde aus Lithocholsäure ein Phosphoramidit synthetisiert, welches während der Oligonukleotidsynthese zwischen zwei Nukleotide eingeführt worden ist (s. Abb. 30). Es konnte durch UV-spektroskopische Schmelzpunktmessungen gezeigt werden, dass das ODN vom Typ 5'-d(T12LT12) keine Duplexe bildet, jedoch das ODN vom Typ 5'-d(T12LA12).

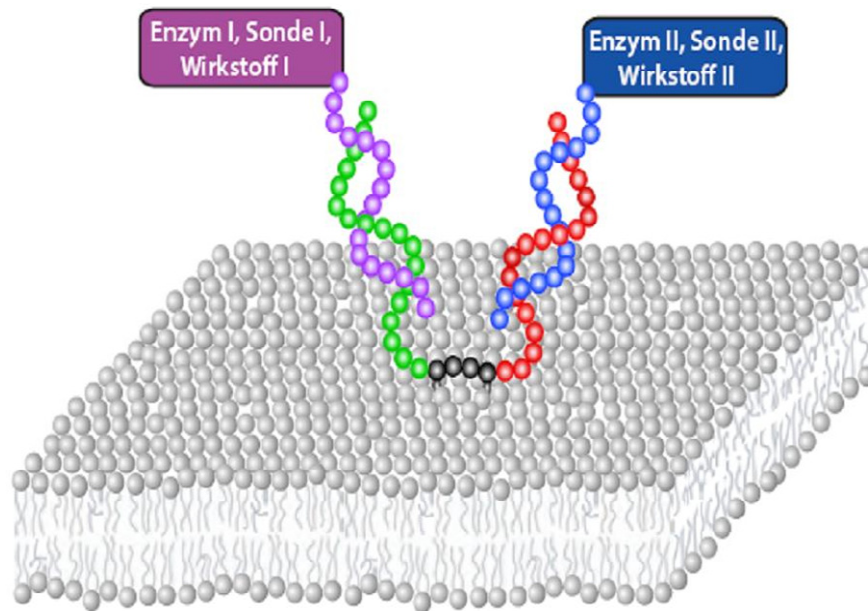


Abbildung 29: DNA mit mittigen lipophilen Anker für den Einsatz in Multi-Enzym-Komplexen oder *Molecular Beacon* aus der Dissertation von Andreas Bunge (Bunge, 2008)

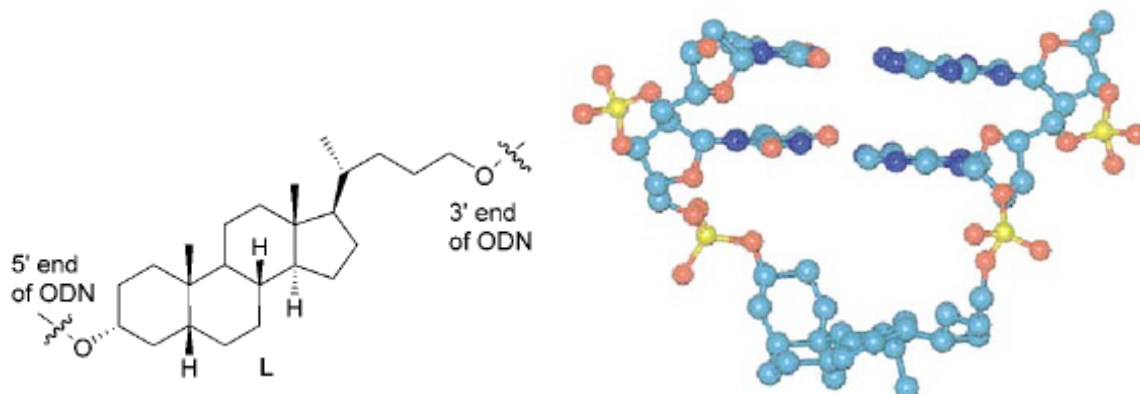


Abbildung 30: Verwendeter DNA-Anker von Kim *et al.* (Kim et al., 2004) zur Ausbildung von Hairpinstrukturen

Durch eine interne Markierung finden 2'-OH-Derivate von Nukleosiden vor allem Bedeutung in der Aufklärung von Faltungsmechanismen der RNA, da sie gegenüber den 3'- bzw. 5'-Analoga ein größeres Spektrum an denkbaren Derivatisierungspositionen vorweisen. Eine viel versprechende Methode zur Klärung dieser Fragestellung ist die Fluoreszenzspektroskopie, welche in der Aufklärung von Proteinfaltungen und Entfaltungen erfolgreich

eingesetzt wird. Hierbei wird ein fluoreszierendes Molekül, z.B. ein Pyrenderivat kovalent an eine durch Substitution eingeführte 2'-NH₂-Gruppe eines Nukleotides im RNA-Strang gebunden (Silverman und Cech, 1999). Weiterhin werden 2-alkylierte Oligonukleotide im großen Umfang in der „*Anti-Gene-Biotechnology*“ eingesetzt. Denn es zeigte sich, dass diese kinetisch und thermodynamisch stabilere Duplexe bilden, als die natürlichen Oligonukleotide (s. Abs. 2.1). Eine weitere Verwendung finden 2'-OH-Derivate in der Untersuchung von Protein – Oligonukleotid – Wechselwirkungen. Dabei werden die zu untersuchenden Proteine über Aminolinker mit Oligonukleotide verknüpft, welche an der 2'-Position eine (Turutin et al., 2002) oder gar zwei (Gritsenko et al., 2002) Aldehydgruppen tragen.

Aus diesen aufgeführten Gründen und den vielfältigen Möglichkeiten des Einsatzes solcher Nukleolipide wurden in der vorliegenden Arbeit verschiedene Synthesestrategien untersucht, um lipophile Reste vorrangig an 2'-Position anzubringen. Dabei wurden in Anlehnung an die Natur, als lipophile Anker vorrangig Fettsäurederivate, aber auch das Cholesterol und verschiedene Terpene verwendet. Die Verknüpfung erfolgte zum einen über Ester. Diese haben den Vorteil, dass sie biologisch durch Lipasen spaltbar sind. Somit kann das gebundene Nukleosid leicht von der Membran entfernt und auch metabolisiert werden. Ein Nachteil dieser Verknüpfungsart besteht darin, dass diese erhaltenden Monomere nicht in der Oligonukleotidsynthese eingesetzt werden können. Ein ähnliches Verhalten wird auch bei den Disulfiden beobachtet. Der lipophile Anker kann zwar durch Verwendung von solchen Reduktionsmitteln wie Cleland's Reagenz (DTT) oder Mercaptoethanol gezielt von dem Nukleosid abgespalten werden, aber der Einsatz solcher Disulfide in der Oligonukleotidsynthese ist nur bedingt möglich. Weitere Verknüpfungen sind in der Bildung von Carbamten, Amiden, Ethern oder Thioethern gegeben. Diese Produkte können anschließend in der Oligonukleotidsynthese eingesetzt werden und sind in der biologischen Umgebung relativ stabil.

Einige der dargestellten Monomere wurden demnach in ihre entsprechenden Phosphoramidite überführt und in verschiedenen Positionen in Oligonukleotiden eingebaut.

AFM-Untersuchungen sollten weiterhin zeigen, inwiefern die in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Monomere supramolekulares Verhalten zeigen und Messungen durch unsere Kooperationspartner sollten im Rahmen von geförderten BMBF-Projekten das Verhalten der Nukleolipide und der amphiphilen Oligonukleotide in Membranen zum einen biophysikalisch (Arbeitsgruppe Prof. Dr. A. Herrmann), als auch NMR-spektroskopisch (Arbeitsgruppe PD Dr. D. Huster) untersuchen.

2 Allgemeiner Teil

2.1. Synthese von Ethern und Estern

Ausgangspunkt der vorliegenden Dissertation waren bisherige Arbeiten aus unseren Arbeitskreis (Bunge et al., 2007; Flasche et al., 2004; Kurz et al., 2006; Scheidt et al., 2004) und Arbeiten von Pincet *et al.* (Heuvingh et al., 2004; Pincet et al., 2001; Pincet et al., 1994; Pincet et al., 1996). In diesen wurden zwei unterschiedlich mit komplementären lipidierten Nukleosiden *tagged-GUVs* mit Hilfe der Basenpaarung so dicht herangeführt, dass eine Hemifusion beobachtet werden konnte.



Abbildung 31: Zwei aggregierende Vesikel nach von Pincet *et al.* Ein Vesikel ist mit einem Adenosinlipid funktionalisiert und mit RhPE auf der Oberfläche und FITC-Dextran im Inneren gelabelt. Das andere Vesikel ist ungelabelt und mit dem Thymidinlipid versetzt (Balkenlänge 10µm). Links: Fluoreszenzbild bei der Laseranregung von Rhodamin (514nm) Rechts: Fluoreszenzbild bei der Laseranregung von Fluorescein (488nm)

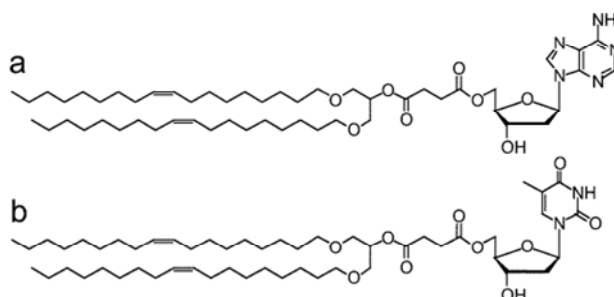


Abbildung 32: Die verwendeten Nukleolipide

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden unterschiedliche lipophile Uridine synthetisiert, um einen Vergleich erzielen zu können, wie viele Anker für eine Bindung des Nukleolipides in Membranen benötigt werden. Weiterhin wurde untersucht, ob ein Spacer zwischen dem Zucker und dem lipophilen Rest Unterschiede in der Membranverankerungstiefe des entsprechenden Nukleolipides ersichtlich werden lässt. Wie im Kapitel 1.2.1 erwähnt, wurden viele Pharmawirkstoffe wie 5-Fluoruridin oder andere antivirale Nukleoside mit Fettsäuren umgesetzt, um sie biologisch besser verfügbar zu machen (*Prodrugs*) und vor dem enzymatischen Abbau zu schützen. Dabei wurden die Veresterungen meist enzymatisch durchgeführt (Bijsterbosch et al., 2002; Ramirez et al., 1982; Shea et al., 1990). Diese dargestellten Ester lassen sich natürlich nicht in der späteren Oligonukleotidsynthese einführen, da es bei der basischen Abspaltung des Oligonukleotides vom CPG (*controlled pore glass*),

auch zu einer Spaltung des Esters kommen wird. Aus dem Grunde wurden solche Oligonukleotide in der Literatur nachträglich mit Fettsäuren oder Glycerolester umgesetzt, um ihre Bioverfügbarkeit zu erhöhen.

Für die Synthese eines Nukleosides mit einer Estergruppierung an $O2'$ -Position wurde nach einer Vorschrift von Furusawa *et al.* (Furusawa *et al.*, 1990) die $O3'$ - und die $O5'$ -Position des Uridins mit Diterbutylsilyldinitriflat in einer Ausbeute von 88% geschützt und anschließend die $O2'$ -Position mit dem Säurechlorid der Palmitinsäure in Pyridin verestert. Das Zwischenprodukt **3** wurde ohne Aufreinigung im nächsten Schritt mit NH_4F entschützt.

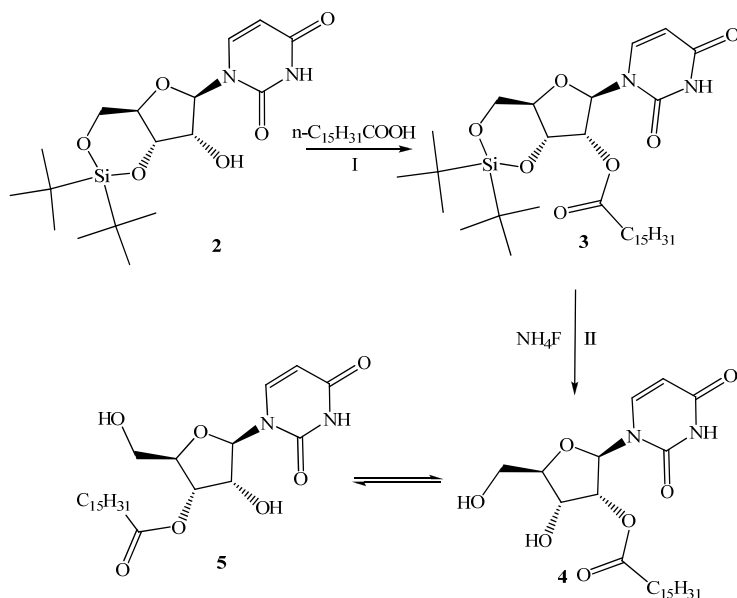


Abbildung 33: Synthese des $O2'$ -Palmitoyluridins: I) 1.5 eq. $n\text{-C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$, DMAP, Pyridin, 16 h bei RT; II) NH_4F , MeOH, 16 h bei RT, 48% über 2 Stufen

Man erhält dabei nicht nur das gewünschte $2'$ -Palmitoyluridin **4**, sondern ein Isomerengemisch aus $O2'$ - und $O3'$ -(Palmitoyl)uridin **4** und **5**, im Verhältnis von 4:9. Ein ähnliches Umesterungsverhalten ist schon seit längerem bei der Synthese von acylierten Nukleosiden (Neumann *et al.*, 1968; Reese und Trentham, 1965; Reese und Trentham, 1965) und auch in der Biologie bekannt. Dort vor allem bei der Biosynthese der *second messenger* $3',5'$ -cycloAMP oder $3',5'$ -cycloGMP aus den entsprechenden Triphosphaten der Nukleoside. Durch eine Wechselwirkung des Nukleosides mit dem Enzym kommt es zu einer Schwächung der $\text{HO}3'$ -Bindung, wodurch das Sauerstoffatom am Phosphoratom an $O5'$ -Position intramolekular angegriffen wird. Ein ähnlicher Mechanismus wird auch für die Umesterung an **4** vorgeschlagen (s. Abb. 34). In diesem Fall wird durch die Spaltung der Si-O-Bindung und der Bildung einer viel stärkeren Si-F-Bindung ein Alkoxidion generiert, welches intramolekular die Umesterung hervorruft. Trotz des Vorliegens der Isomerenmischung **4** und **5**, wurde das System von uns in Membranbildungs- und verankerungsversuchen erfolgreich eingesetzt (s. Abs. 2.9 s. Abs. 2.10).

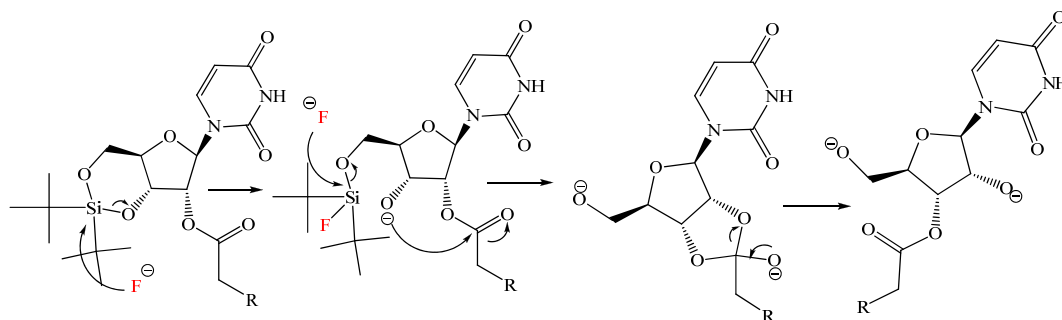


Abbildung 34: Möglicher Mechanismus für die beobachtete 2'3'-Acylwanderung

Der Nachweis und die Bestimmung des Verhältnisses des Isomerengemisches erfolgte mittels ^1H -NMR spektroskopischer Untersuchungen und dem Vergleich mit den Edukten und der Literatur (s. Abb. 35)

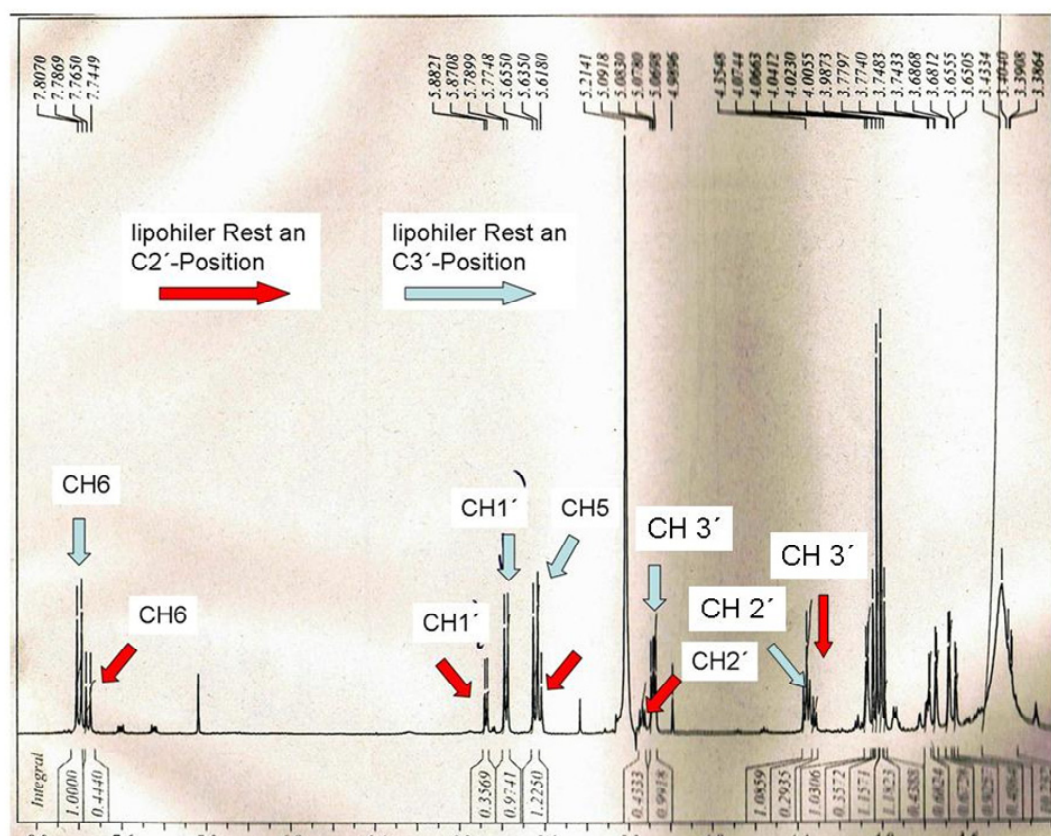


Abbildung 35: ^1H -NMR-Spektrum des Isomerengemisches des 2',3'-(Palmitoyl)uridin 4/5

Diese Umlagerung wird aus sterischen Gründen unterbunden, wenn der lipophile Rest mit der 2'-Position des Arabinosanalogs des Uridins verknüpft ist. Man erhält nach einer Mitsunobureaktion von **2** mit der 4-(1,3-bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6** und anschließender Entschüttung das stabile 2'-Acyl-arabinsederivat **8** (s. Abb. 36).

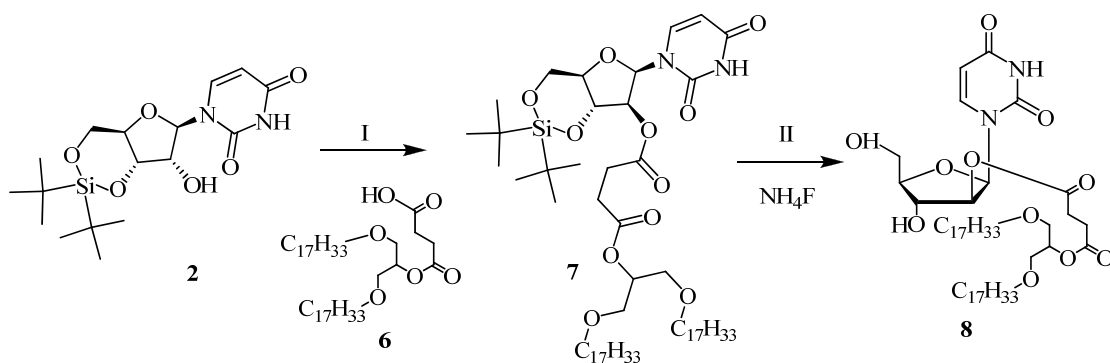


Abbildung 36: Synthese des 2'-Acyl-arabinosederivat **8**: I) 1.26 eq. DIAD, 1.2 eq. PPh₃, 1.2 eq. **6**, THF, 16 h bei RT, 62%; II) NH₄F, MeOH, 16 h bei RT, 17%

Die Synthese des verwendeten 1,2,3-Trihydroxypropan-1,3-dioleat **11**, welches anschließend mit Bernsteinsäureanhydrid in Pyridin zu **6** umgesetzt worden ist, erfolgte nach einer Vorschrift von Bentley (Bentley und McCrae, 1970).

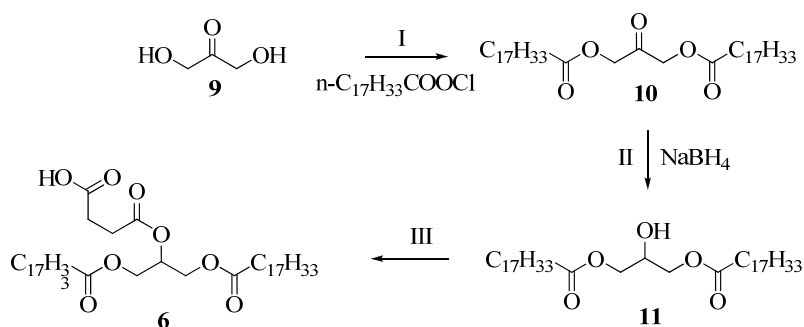


Abbildung 37: Synthese von **6**: I) 3.3 eq. Oleoylchlorid, Pyridin, CH₂Cl₂, 2 ¼ h bei RT, 81%; II) 1.1 eq. NaBH₄, H₂O, THF, 1h, 4°C->RT, 92%; III) Bernsteinsäureanhydrid, DMAP, CH₂Cl₂, 16h bei RT, 90%

Für die Synthese eines Uridins mit zwei lipophilen Resten an O2'- und an O3'- Position (s.Abb. 38) wurde O5'-(4,4'-Dimethoxytrityl)uridin **12** analog zu der oberen Vorschrift, zum einen in 81% Ausbeute mit Palmitinsäurechlorid in Pyridin verestert und zum anderen in quantitativer Ausbeute mit Bernsteinsäureanhydrid. Das Dipalmitat **13** wurde mit 80%iger Essigsäure in 28% Ausbeute zu dem Produkt **14** entschützt. Das Disuccinat **15** wurde zuerst mit Pentadecanol, unter Verwendung von DCC, in 95% Ausbeute umgesetzt und anschließend sauer zu dem gewünschten Produkt **16** entschützt.

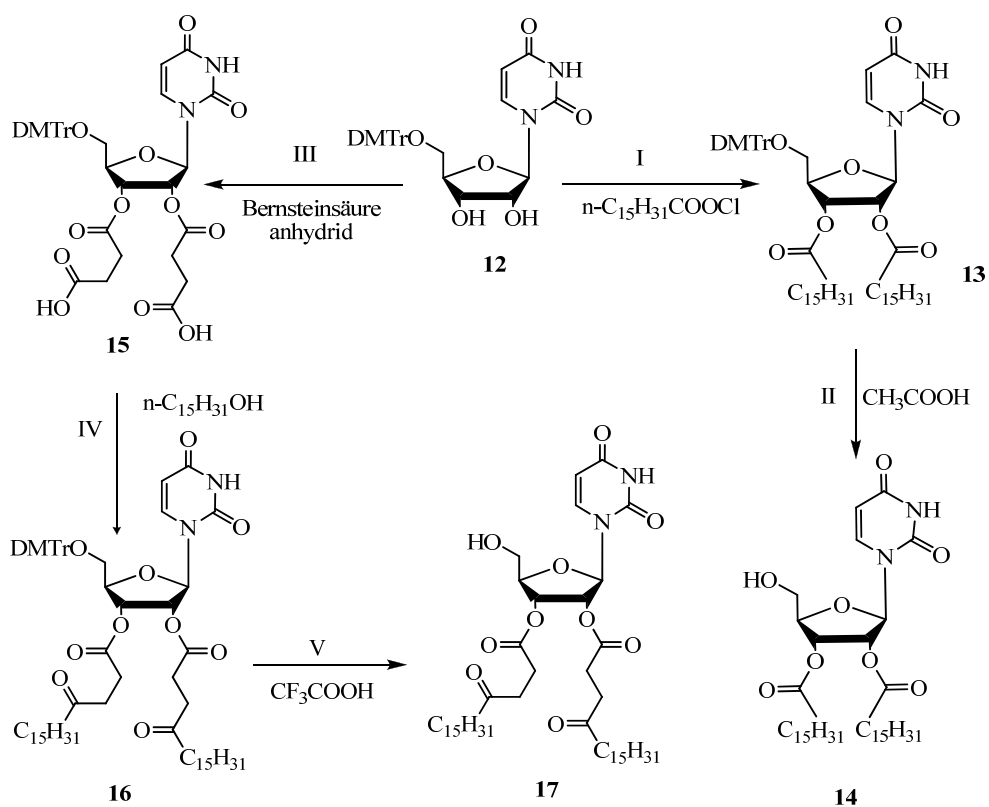


Abbildung 38: Synthese der 2', 3'-Diacylnukleolipide: I) 3.0 eq. $n\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COCl}$, DMAP, Pyridin, 2h bei RT, 81%; II) 80% CH_3COOH , 20 min bei RT, 26%; III) 3.0 eq. Bernsteinsäureanhydrid, DMAP, Pyridin, 72h bei RT, quant. IV) 0.5 eq. $n\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{OH}$, DCC, DMAP, Toluol, 72h bei RT, quant.; V) CF_3COOH , CH_2Cl_2 , 30 min bei RT, 46%

In Analogie zur Herstellung des Arabinosederivates **7** wurde auch versucht, ein Uridinderivat mit zwei lipophilen Acylresten an 2'- Position zu synthetisieren. Dies erwies sich, womöglich wegen des sterischen Anspruches des lipophilen Restes, als schwieriger. Es wurden daraufhin verschiedene Synthesewege getestet (s. Tab. 1).

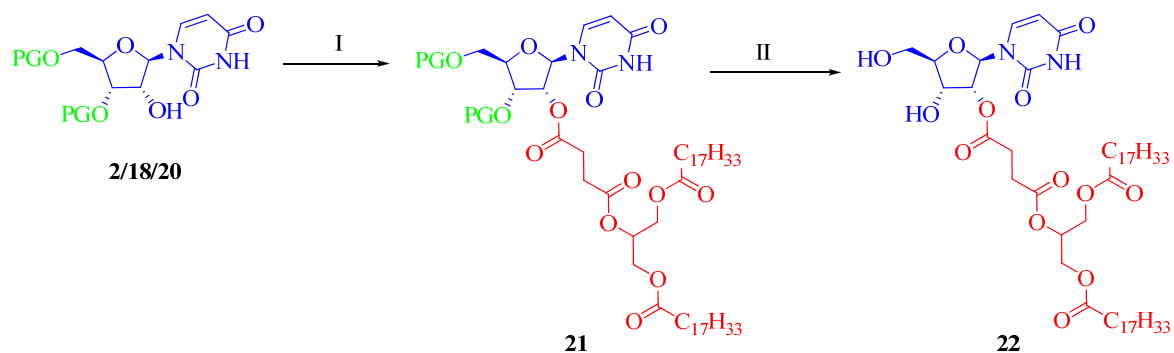
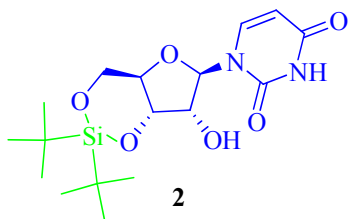
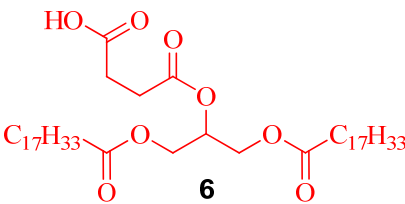
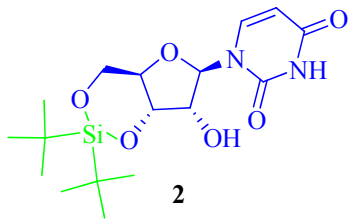
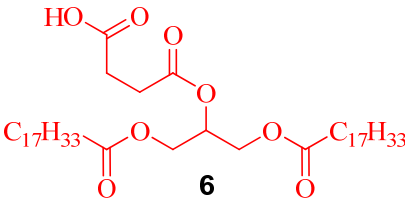
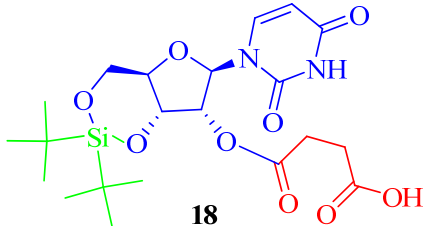
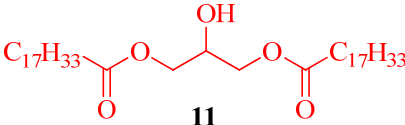
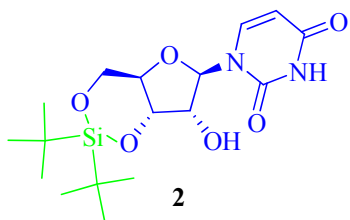
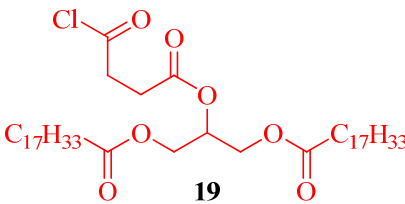
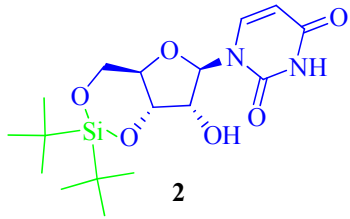
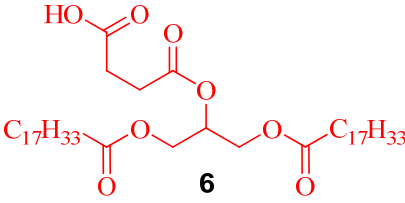
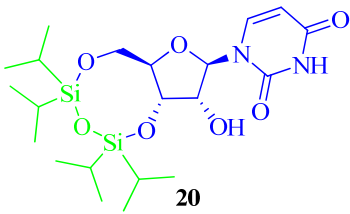
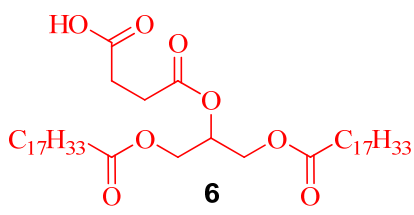


Abbildung 39: Synthese von **22**: I) s. Tab. 1; II) $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$, THF, 16h bei RT, 80%

Tabelle 1: Versuche zur Synthese von 22

21	Edukt 1	Edukt 2	Reaktionsbedingung
a	 2	 6	DCC (1.0 eq.), DMAP (1.0 eq.), DMF, 72h bei RT 21% Produkt
b	 2	 6	DCC (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.), DMF, 72h bei RT kein Produkt
c	 18	 11	DCC (1.2 eq.), HOBT (1.2 eq.), DMF, 72h bei RT kein Produkt
d	 2	 19	DMAP (1.2 eq.), Pyridin, 72h bei RT kein Produkt
e	 2	 6	EDC (2.0 eq.), PyPy (2.0 eq.), DMF, 72h bei RT kein Produkt

f	 20	 6	DCC (1.2 eq.), DMAP (0.4 eq.), THF, 16 h bei RT 58% Ausbeute
---	--	--	--

Mit der Wahl des Lösungsmittel THF für die Synthese wurde letztendlich das gewünschte Produkt **21f** in guter Ausbeute aus dem geschützten Uridin **20** und dem Dioleat **6** erhalten. Nach der Entschützung mit Triethylamintrihydrofluorid in THF wurde das Produkt **22** in 80%iger Ausbeute, ausschließlich als 3'-Isomer isoliert, wie aus den aufgenommenen H,H-COSY-NMR-Spektrum zu entnehmen war.

Für Untersuchungen einer Fusionsbildung zwischen zwei Vesikeln mit unterschiedlichen Nukleolipiden, ähnlich dem Experimenten von Pincet *et al.*, wurde auch das entsprechende Adenosinanalogen dargestellt (s. Abb. 40). Dabei wurde nach einer Vorschrift von McLaughlin *et al.* (McLaughlin *et al.*, 1985) *N*6-Benzoyladenosenin **24** synthetisiert, welches anschließend mit TIPDSCI (Markiewicz, 1979) regioselektiv an der O3'- und der O5'-Position geschützt worden ist. Die Veresterung des geschützten Adenosins **25** erfolgt nach der oben erprobten Methode in THF, allerdings nur in 22% Ausbeute. Nach Abspaltung der Silylschutzgruppe in 89% Ausbeute wurde versucht die Benzoylschutzgruppe unter milden Bedingungen zu entfernen, ohne dabei den Ester zu spalten. Eine Entschützung mit überhitztem Methanol nach einer Vorschrift von Nowak *et al.* (Nowak *et al.*, 2005) sollte laut Angaben des Autors zu einer selektiven *N*-Deacylierung führen. Im genannten Beispiel untersuchten sie unter anderem die Reaktion von *N*6-Benzoyl-2',3',5'-tri-O-isopropyladenosin und erhielten das *N*-deacylierte Produkt nach 12 h in 88% Ausbeute. In unseren Fall kam es zu einer Abspaltung der Benzoylschutzgruppe und auch des Esters. Der Versuch dieser Esterspaltung durch den Einsatz eines stärkeren Nukleophiles (Isobutylamin) zu umgehen, schlug fehl. Es wurden die Edukte zurück erhalten. Interessanterweise verlief eine basische Abspaltung mit 25% Ammoniumhydroxid in Ethanol bei Raumtemperatur zu einem Verlust des Esters, aber zum Erhalt der Benzoylschutzgruppe.

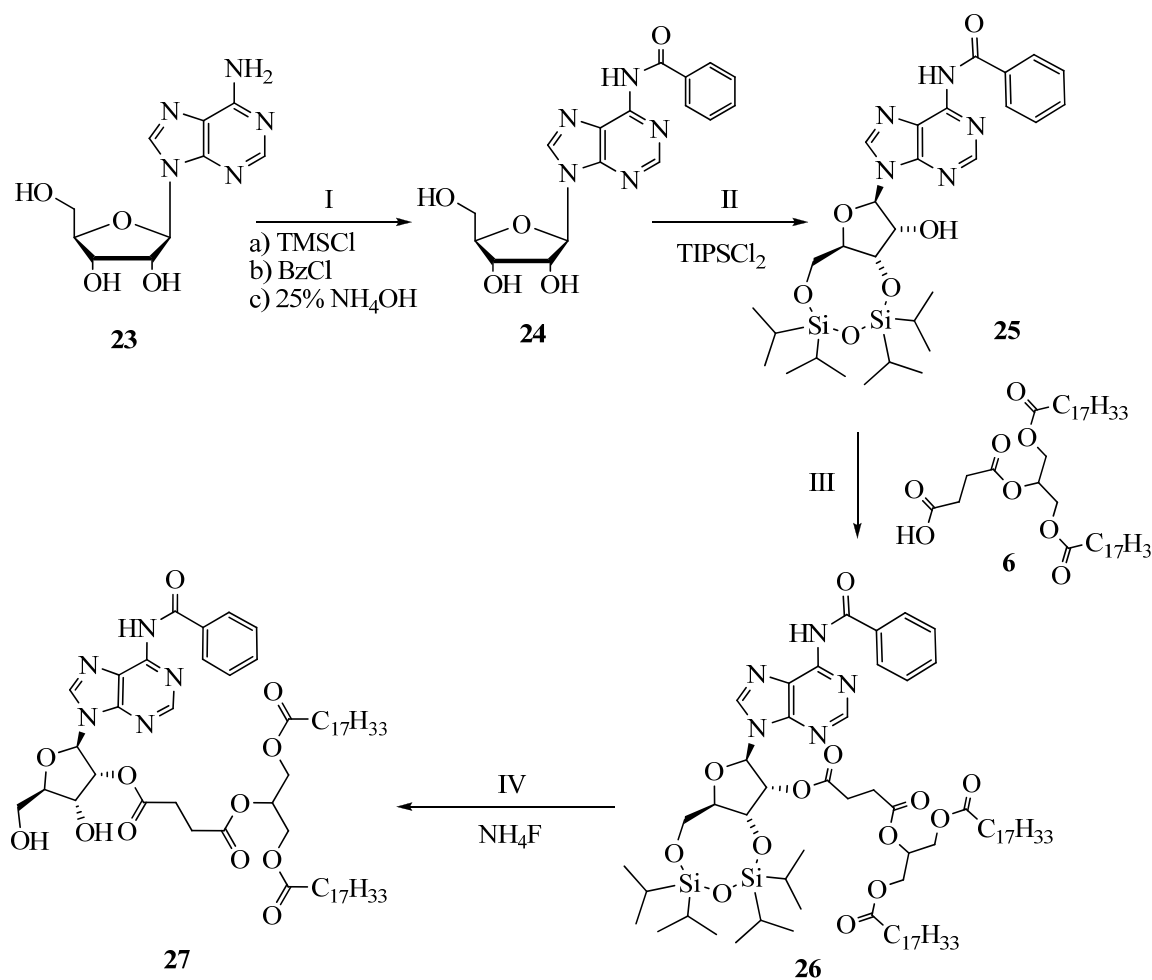


Abbildung 40: Synthese des 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(N6-benzoyladenosen)succinat: I) a) 7.5 eq. TMSCl, Pyridin, 3h, bei RT; b) 3 eq. BzCl, 16h bei RT; c) 25% NH₄OH 20 min bei 0°C, 79%; II) TiPSCl₂, Pyridin, 16h bei RT, 90%; III) **6**, DCC, DMAP, THF, 72h bei RT, 22%; IV) Et₃N·3HF, THF, 2h bei RT, 89%

Da dieser Weg nicht erfolgversprechend war, wurde die Veresterung mit dem Glyceroldioleat **6**, trotz der exozyklischen ungeschützten Aminogruppe, nach der oben erprobten Methode am O3',O5'-Tetraisopropylidisilyladenosen **28** durchgeführt und das Produkt **29** in 60% Ausbeute erhalten (s. Abb. 41). Eine N-Acylierung konnte aufgrund eines Vergleichs der ¹H-NMR Spektren von **26** und **29** ausgeschlossen werden (s. Abb. 42). Man erkennt eine sehr ähnliche Verschiebung des 2'-Proton, was für eine gleiche Derivatisierung an dieser Stelle spricht. Interessanterweise sind die aromatischen Protonen aufgrund des Fehlens der Benzoylschutzgruppe stark verschoben, was dafür spricht, dass der Aromat der Benzoylschutzgruppe in den Anisotropiekegel des Purins ragt und die beobachtete chemische Verschiebung hervorruft. Die Entschützung mit Triethylamintrihydrofluorid ergab **31** in 18% Ausbeute, jedoch ausschließlich als O3'-Isomer. Die vollständige Umlagerung der Produkte **31** und **22** in das 3'-Acylprodukt ist wahrscheinlich auf den größeren Raumbedarf der Acylgruppe **6**, im Vergleich zu den Palmitoylprodukten **4** und **5**, zurückzuführen, wo beide Produkte beobachtet wurden.

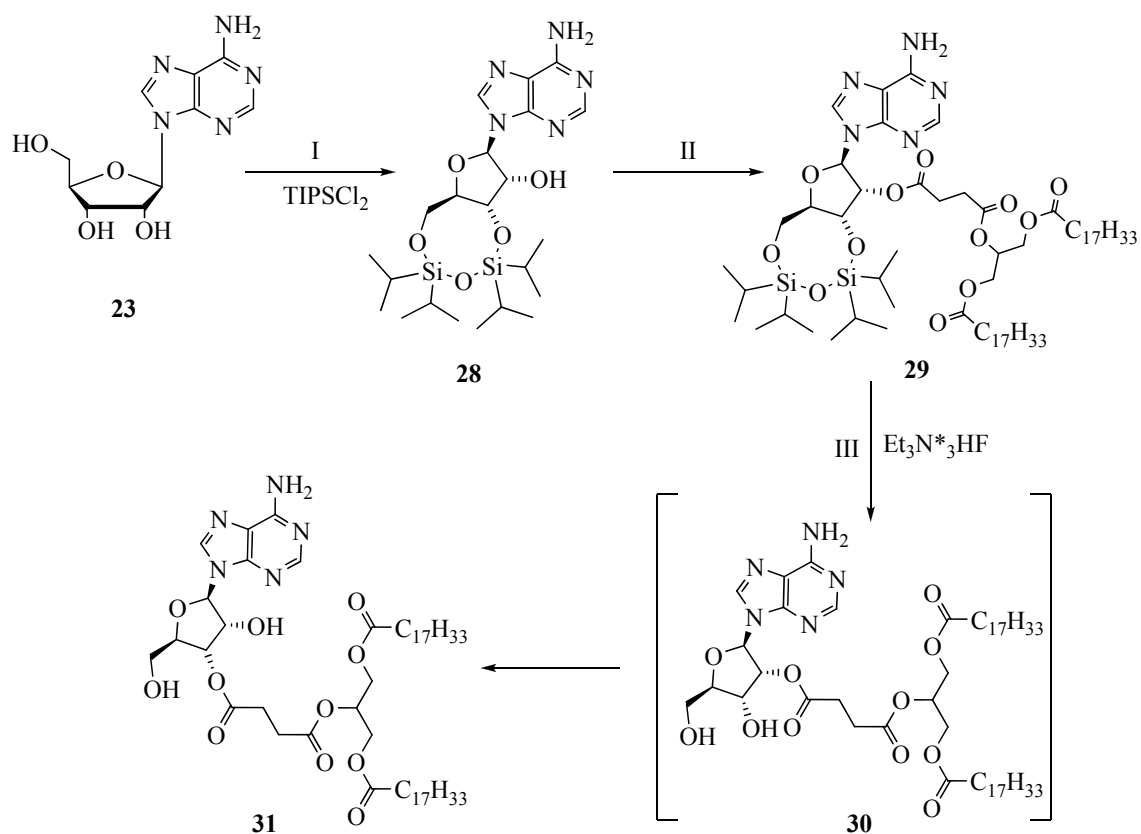


Abbildung 41: Synthese des 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-(adenosinyl)succinat: I) TiPSCl₂, Pyridin, 16h bei RT, 90%; II) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-ylsuccinat, DCC, DMAP, THF, 72h bei RT, 60%; III) Et₃N·3HF, THF, 4h bei RT, 18%

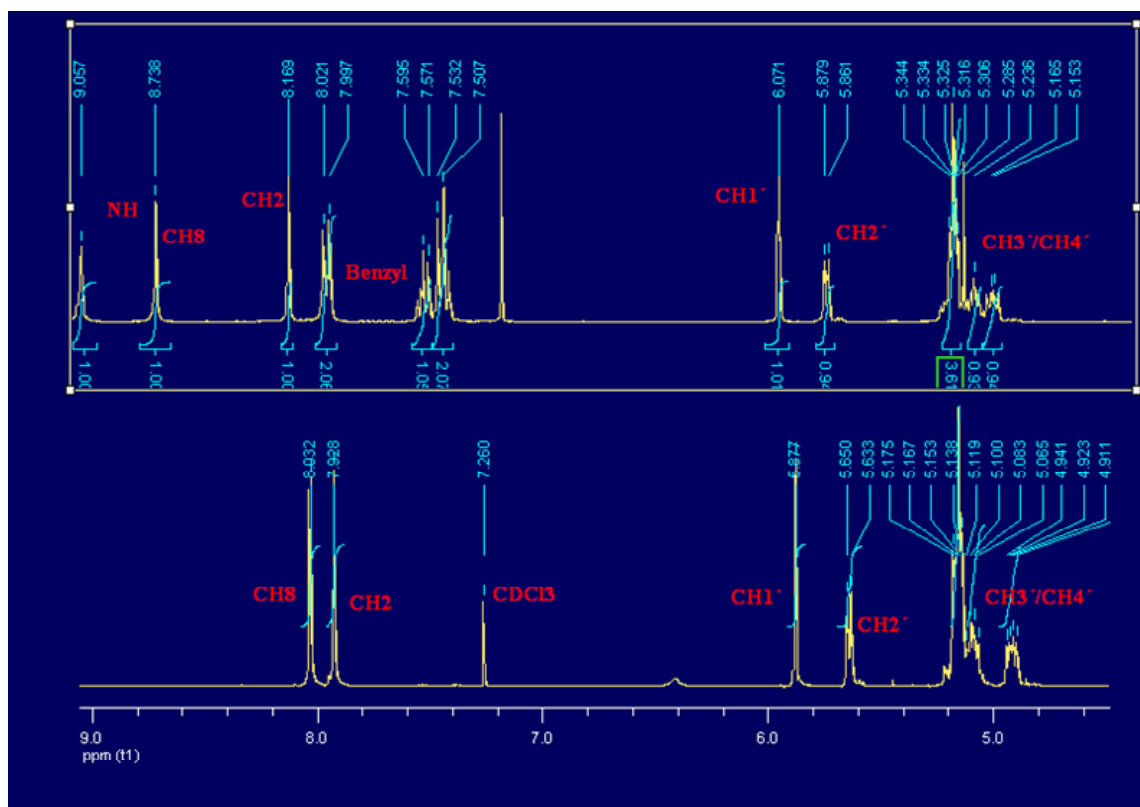


Abbildung 42: Gegenüberstellung der ¹H-NMR-Spektren von **26** (oben) und **29** (unten).

Um den Einfluss der Anzahl von Fettsäureresten in Nukleosiden systematisch untersuchen zu können, wurde ein Vertreter mit drei lipophilen Ankern synthetisiert. Dabei wurde von einem Pentaerythritolderivat ausgegangen. Da große Ähnlichkeiten zu Glycerol oder TRIS bestehen, kann Pentaerythritol aufgrund seiner chemischen Struktur sehr gut als funktionelle Ausgangssubstanz für Lipidsynthesen genutzt werden. Um drei lipophile Reste und einen Spacer einzuführen, war es notwendig, drei der vier Alkoholgruppen zu differenzieren. Dies gelang in Form einer Bromierung zu **33** durch die Behandlung des Pentaerythritol mit konzentriertem HBr in Anwesenheit von Eisessig und anschließendem Umsatz in konzentrierter Schwefelsäure (Davis et al., 1999) in 46% Ausbeute. Die Einführung des Spacers erfolgte durch die schon oben genannte Synthese mit Bernsteinsäureanhydrid. Der entstandene Halbester **34** wurde anschließend in 47% Ausbeute mit dem geschützten Uridin **20** verestert. Die Umsetzung von **35** mit 3.3 eq. Octadecanthiol in Dichlormethan und der anschließenden Entschützung brachte überraschenderweise lediglich das einfachalkylierte Produkt **37** in eine Mischung aus 2'- und 3'-Produkt im Verhältnis von 1:4.

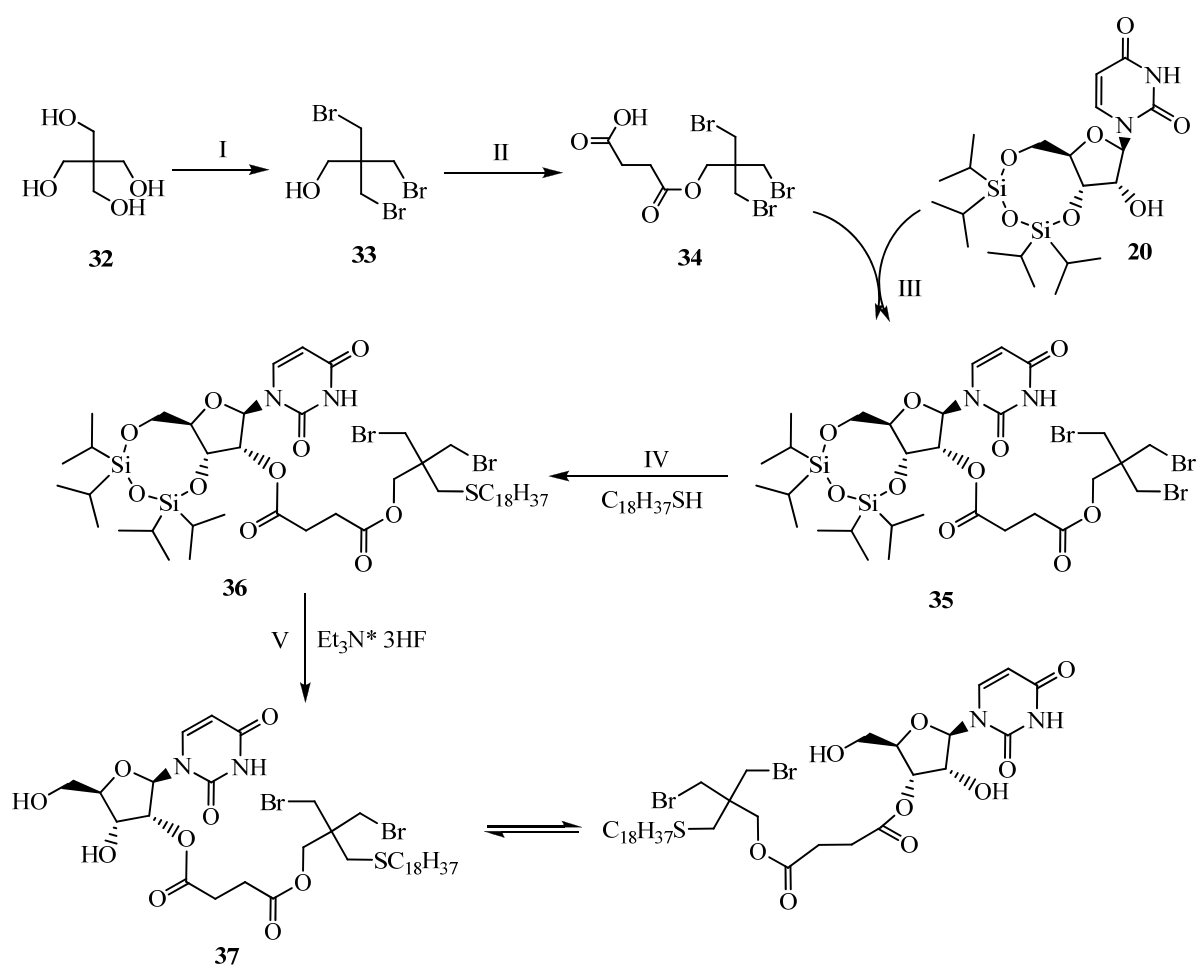


Abbildung 43: Synthese des 2'-(4-(3-Octadecyl-2,2-bis(octadecylmethyl)propyl)-4-oxobutanester)-2'-desoxyuridin **33**: I) a) AcOH(glacial) : 40%HBr 1:5, 24 h unter Rückfluss b) H_2SO_4 (konz.), 40% HBr 1:2, 24 h unter Rückfluss, 46%; II) Bernsteinsäureanhydrid, DMAP, Pyridin, 60h bei RT, quant.; III) DCC, DMAP, THF, 64 h bei RT, 48%; IV) 3.3 eq. $C_{18}H_{37}SH$, 15 eq. DIPEA, $CsCO_3$, CH_2Cl_2 , 12d bei RT, 10%; V) $Et_3N \cdot 3HF$, THF, 3h bei RT, 69%

Um die 2'-3'-Acylwanderung zu umgehen, mussten für weitere Untersuchungen andere funktionelle Gruppen gewählt werden. Manfredini *et al.* (Manfredini *et al.*, 2001) synthetisierten ausgehend von O2,O2'-Anhydrouridin, 2'-O-Acyl- und auch 2'-O-Alkyllderivate des Arabinofuranosyl-pyrimidins, um sie als hochselektive Kinaseinhibitoren zu verwenden. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Einführung des Acylrestes, nicht aber des Alkylrestes zu einer Erhöhung der Affinität zu TK-2 führte und eine stärkere inhibierende Wirkung zeigte, als das unmodifizierte Nukleosid.

Mit der Entdeckung der Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren (Geoffrey, 1978) erkannte man, dass Nukleotide auch außerhalb der Zelle wichtige Aufgaben als Neurotransmitter bzw. Neuromodulatoren erfüllen (s. Abb. 44). Dies legt nahe, auch die von uns synthetisierten Nukleosidester pharmakologisch zu untersuchen. Die Ergebnisse hier zu stehen aber noch aus.

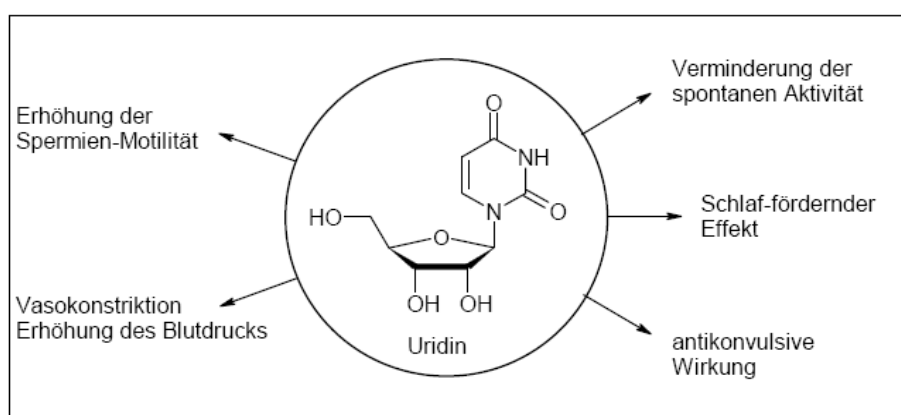


Abbildung 44: Pharmakologische Wirkungen von Uridin aus der Dissertation von Till Schumacher (Schumacher, 2005)

Die Veretherung der 2'-O-Position ist schon seit längerem bekannt. Einer der bekanntesten Vertreter sind die 2'-O-methylierten RNAs, welche für die Antisense-Technologie eingesetzt werden, um die RNA gegenüber Nukleasen resistenter zu machen. Bei der Antisense-Technologie (Gleave und Monia, 2005; Miller *et al.*, 1977; Stephens *et al.*, 1973; Uhlmann und Peyman, 1990) wird ein RNA- oder DNA-Strang, welcher modifiziert sein kann, in die Zelle eingeschleust, um dort mit der komplementären RNA („Sense“) einen stabilen Doppelstrang zu bilden. Dadurch wird der Sensestrang der Transkription entzogen und steht für die Proteinbiosynthese nicht mehr zu Verfügung. Probleme traten dahingehend auf, dass diese RNA-RNA-Duplexe nicht sehr stabil waren, zum einen in thermischer, zum anderen in enzymatischer Hinsicht. Um diese Stabilität zu erhöhen, wurden modifizierte Nukleoside verwendet (s. Abb. 46). Die erste Generation der Antisenseoligonukleotide bestand in dem Austausch des nicht verbrückenden Sauerstoffatoms im Phosphatrückgrat durch ein Schwefelatom, zum Phosphorthionat (Declercq *et al.*, 1969). Diese Phosphorthionate waren nun zwar 10 h gegenüber RNA-Nuklease stabil, aber sie hatten auch den Nachteil, dass sie sich unspezifisch an Proteine binden konnten, demzufolge zytotoxisch waren und sehr langsam mit dem Sensestrang hybridisierten. Die zweite Generation der Antisenseoligonukleotide waren die 2'-O-modifizierten Ribonukleoside (s. Abb. 45).

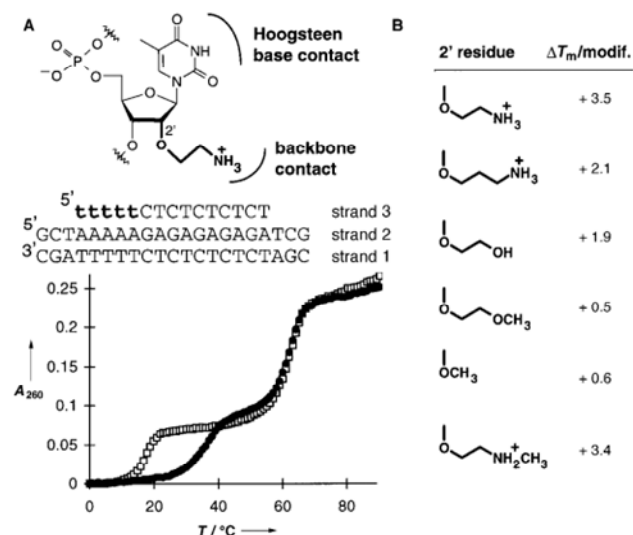


Abbildung 45: Affinität der der modifizierten Oligonukleotide zum DNA-Duplex 2'-Aminoethoxy modifizierte Thymidine (fettgedruckt, Strang 3) hybridisiert mit den Strang 1 und 2 (180mm KCl, 20 mm Na⁺, 10 mm Phosphatpuffer (pH 7.0) und 0.1 mm EDTA) Die Schmelztemperaturen für die Tripelhelix des modifizierten Oligonukleotid (■) wurde mit der des nichtmodifizierten Oligonukleotid verglichen (□) Struktur – Affinitätsbeziehung der verschiedenen 2'- substituierten Oligonukleotide

Die Darstellung von 2'-Nukleosidethern erfolgt meist durch Deprotonierung der Hydroxylgruppe im basischen (NaH) und anschließender Umsetzung des Alkoxides in einer Williamson'schen Ethersynthese. Bei den ungeschützten Purinbasen gelingt dies sogar mit einer hohen Regioselektivität (<5:1; 2:3 Isomer), da die 2'-OH die höchste Acidität (pK_a ~ 12) (Izatt et al., 1965; Levene und Bass, 1926) der Hydroxylgruppen aufweist. Aufgrund dieser Tatsache wurden auch viele lipophile 2'-O-alkylierte Adenosinanaloga dargestellt. Manoharan *et al.* (Manoharan et al., 1991; Manoharan et al., 1993) setzte Adenosin im Basischen mit 6-(Bromohexan)tritylthiol oder 6-(Bromohexan)phthalimid um. Das geschützte 2'-O-Thiohexyladenosin bzw. das 2'-O-Aminohexyladenosin wurde weiter in die Oligonukleotidsynthese verwendet. Nach dem Entschützen wurden die freien Thiolanker oder Aminanker mit verschiedenen Fluorophoren (Pyren, Phenanthrolin oder Fluorescein) oder Lipiden (Cholsäure, Digoxigenin, Phospholipide) verknüpft.

Eine mäßig regioselektive Synthese von 2'-O-alkylierten Pyrimidinnukleosiden konnte über einen 2',3'-O-(Dibutylzinn)-Komplex (Wagner et al., 1974) durch Umsetzung mit Alkylhalogeniden, im Verhältnis von ~ 1:2 (3'-O : 2'-O) erzielt werden.

In ihren Arbeiten wiesen Zhu *et al.* (Zhu et al., 2002) nach, dass die Alkylierung von N3-Benzoyl-3',5'-O-(di-*tert*-butylsilandiy)uridin mit sterisch gehinderten Alkylidenen, wie 2-Ethylbutyliodid als Elektrophil eine unerwartete Umlagerung zum N3-alkyl-2'-O-benzoyluridin vollzieht.

2'-O modifizierte Ribonukleoside werden als sogenannte „Gapmer“ verwendet (Cuenoud et al., 1998; Kawasaki et al., 1993; Lesnik et al., 1993; Monia et al., 1993). Diese zeigen eine bedeutend höhere Affinität gegenüber RNA als DNA, waren jedoch als Oligonukleotid nicht in der Lage die Genexpression zu inhibieren. Erst als „Chimäre“ mit 2'-Desoxynukleotide konnte man eine Inhibierung beobachten. Somit dienten diese 2'-O modifizierten Ribonukleoside am 3'- und 5'-Ende dem Schutz des Antisensestranges vor RNase H-Abbau. Eine weite-

re Erhöhung der thermischen Stabilität von Sense–Antisense-Duplexen und der Zielerkennung brachte die dritte Generation der Antisensenukleotide (Herdewijn, 2000; Kurreck, 2003). Zu ihnen zählen unter anderen PNA (*peptid nucleic acid*), LNA (*locked nucleic acid*) und HNA (*hexitol nucleic acid*).

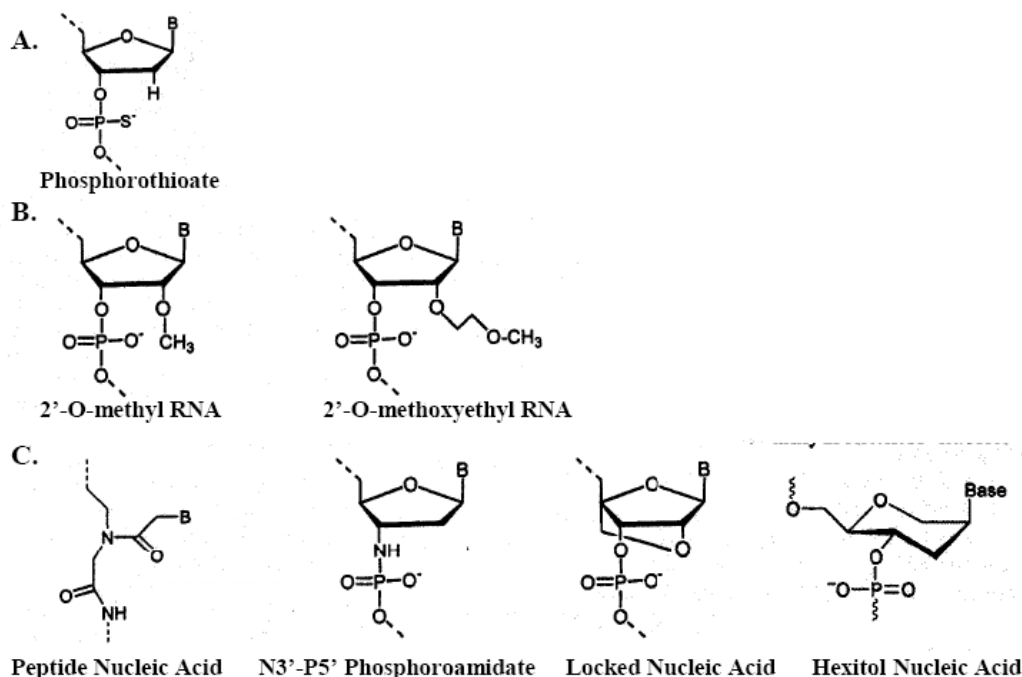


Abbildung 46: Darstellung der drei Generationen der Nukleotidmodifikationen für Anwendungen in der Antisense-Technologie, aus dem IDTutorial- *Antisense-Technologies* 2005 A) Phosphorothionatrückgrat; B) Modifizierung durch Alkylierung der 2'-Position der Ribose; C) verschiedenste Änderungen am Rückgrat

Wir griffen zur Herstellung von 2'-modifizierten Uridinen auf das *O2,O2'*-Anhydrouridin zurück, dass sich nach einer Vorschrift von Prakash *et al.* (Prakash *et al.*, 2002) leicht aus dem Uridin mit Diphenylcarbonat synthetisieren lässt (Hampton und Nichol, 1966; Ogilvie und Iwacha, 1969). Diese Verbindung reagiert bekanntermaßen mit Nukleophilen in der 2'-Position unter Inversion der Konfiguration. Setzt man als Nukleophil Ethylenglycol in Gegenwart einer Lewisbase ein, gelangt man zum Uridinether **39**.

Anschließend sollte die primäre Hydroxylgruppe in eine Fluchtgruppe überführt werden (s. Abb. 47), um sie nachfolgend mit einem guten Nukleophil (Amin, Thiol) umzusetzen. Verschiedene Versuche führten jedoch zu keinem einheitlichen Produkt (s. Tab. 2).

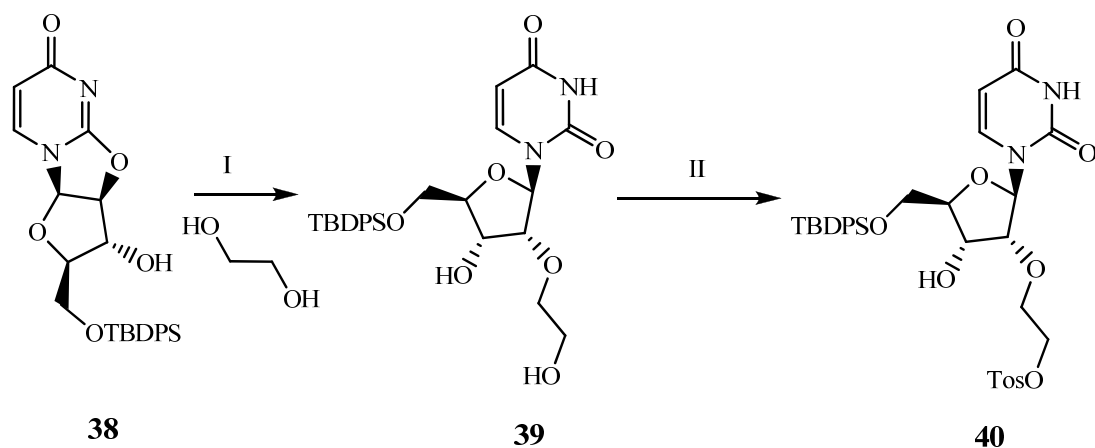


Abbildung 47: Synthese des *O*2'-(Hydroxethyl)-2'-desoxy-*O*5'-(TBDPS)uridin 40: I) Ethylenglycol, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$, 16h bei 160°C , 80%; II) siehe Tabelle 2

Tabelle 2: Versuche zur Synthese von **40**

40	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
a	1.1 eq. TosCl , DMAP, Pyridin, 16h bei RT	Edukt zurück erhalten
b	1.1 eq. TosCl , DMAP, CH_2Cl_2 , 16h bei RT	Edukt zurück erhalten
c	1.1 eq. TosCl , DMAP, Pyridin, 16h von $-20^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$	Edukt zurück erhalten
d	1.1 eq. TosCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 16h von $-30^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$	2 Regioisomere als Monotosylprodukte und ein Ditosylprodukt erhalten
e	1.1 eq. TosCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 16h von $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$	2 Regioisomere als Monotosylprodukte und ein Ditosylprodukt erhalten

Aus diesem Grunde, wurde anstelle des Ethylenglycols, DL-Isopropylidenglycerol eingesetzt (s. Abb. 48). Die 2'-Position des Anhydrouridins **38** wurde verethert, die 3'-Position mit TBDMS geschützt und nach der Abspaltung des Acetons aus **43** in den Glycerolrest zwei Stearylreste unter Bildung von **45** eingeführt. Die Einführung von Glycerol in das TBDPS geschützte Anhydrouridin **38** gelang in vergleichbarer Ausbeute. Jedoch ist an diesem Glycerolether **42** mit einer Konkurrenzreaktion an der freien 3'-Position zu rechnen.

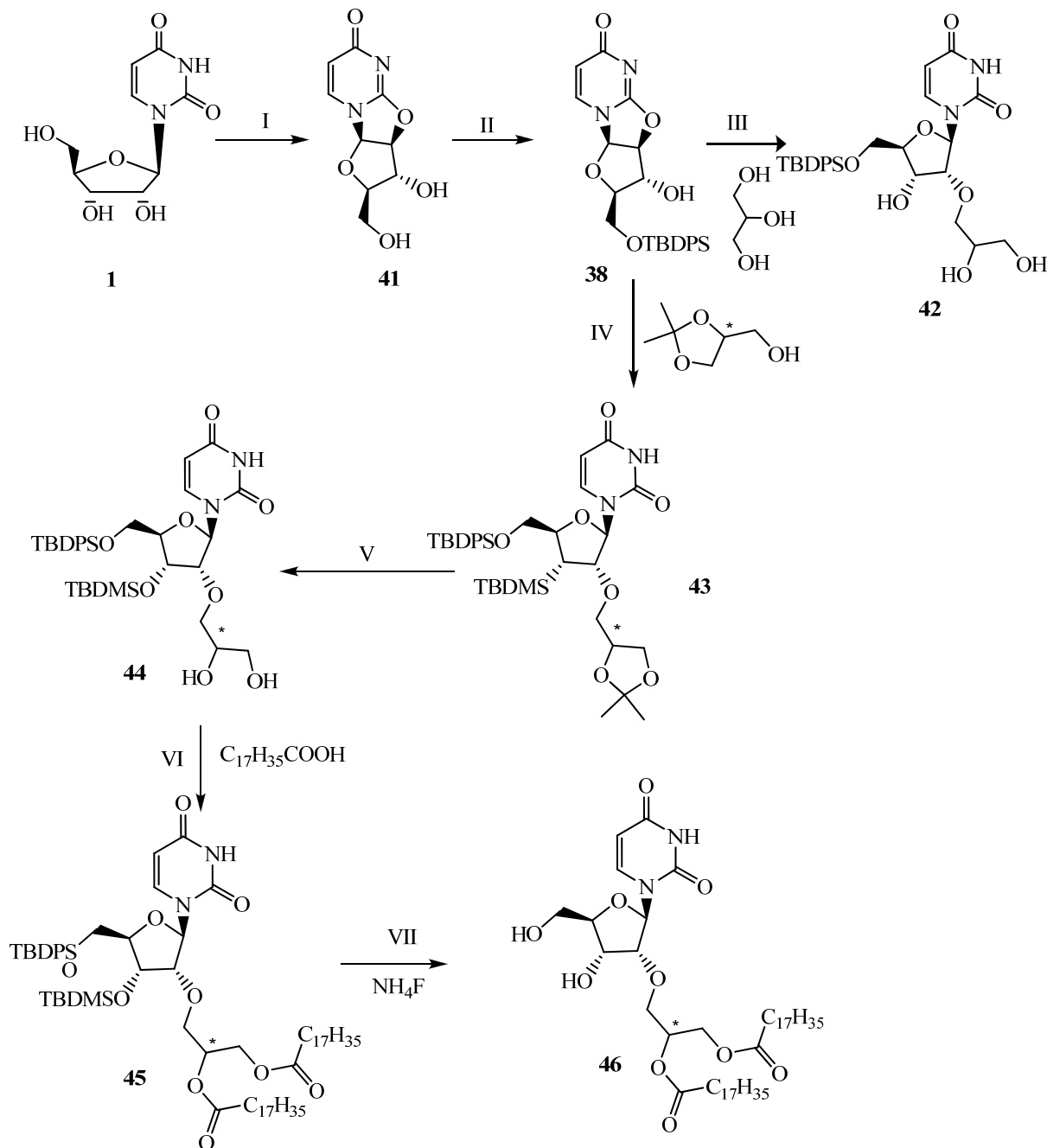


Abbildung 48: Synthese des *O*2'-(1,2-Distearyl)glycerol-2'-desoxyuridin **46**: I) Ph_2CO_3 , DMF, 4 h bei $110^\circ C$, 88%; II) 1.1 eq. TBDPSCl, DMAP, Pyridin, 60 h bei RT; 58%, III) Glycerol, $BH_3 \cdot THF$, 16 h bei $160^\circ C$, 36%; IV) a) DL-Isopropylidenglycerol, $BH_3 \cdot THF$, 16 h bei $160^\circ C$; b) 6.0 eq. TBDMSCl, 12 eq. Imidazol, DMF, 24 h bei RT, 28% über 2 Stufen; V) DOWEX 50X8, H^+ -Form, 48 h bei RT, 17%; VI) $C_{17}H_{35}COOH$, DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , 16 h bei RT, Quant; VII) $n-Bu_4NF$, THF, 4 h bei RT, 73%

Um die nachträgliche Schützung an der 3'-Position zu umgehen, konnte die zweizählige TIPDS-Schutzgruppe für die gleichzeitige Schützung der 3'- und 5'-Position am *O2,O2'*-Anhydrouridin in sehr guten Ausbeuten eingesetzt werden. Durch Umkristallisieren des Produktes **47** aus Dichlormethan wurden die erforderlichen Kristalle für die Einkristallstrukturanalyse (s. Abb. 49) erhalten, die die Arabinosekonfiguration beweist

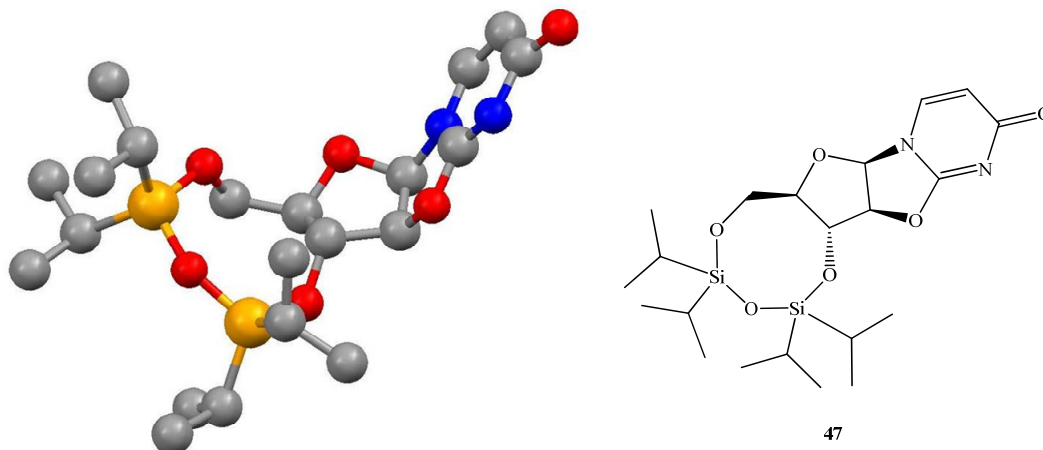


Abbildung 49: Einkristallstruktur von **47**

Jedoch führte die nachfolgende Umsetzung von **47** mit Ethylenglycol zu keinem Produkt. Anscheinend ist die freie Hydroxygruppe an der 3'-Position entscheidend für die lewiskatalysierte Ringöffnung des *O2,O2'*-Anhydrouridin durch Nukleophile oder aber es ist auf eine sterische Hinderung der 2'-Position zurückzuführen, wie anhand der Einkristallstruktur zu erkennen ist.

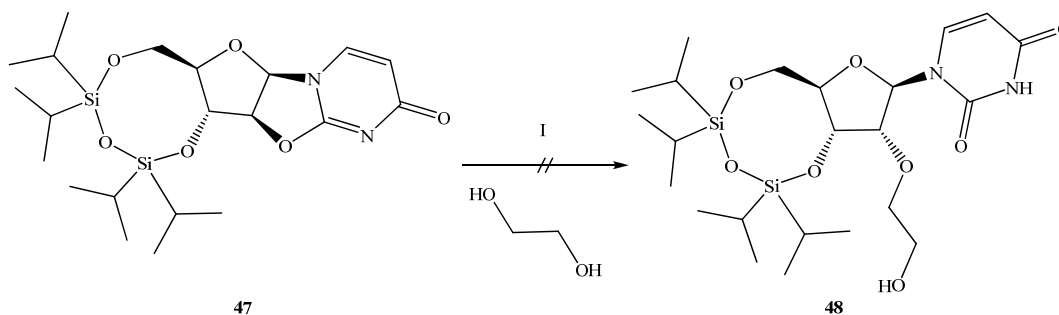


Abbildung 50: Syntheseversuch von **48**: I) $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$, THF, NaHCO_3 , 14 h bei 160°C

Kachalova *et al.* (Kachalova et al., 2000; Zatsepin et al., 2001) synthetisierten ausgehend von geschütztem Uridin über eine mehrstufige Synthese ebenfalls 2'-Glycerol-2'-desoxyuridin. Wobei die entscheidenden Schritte die palladiumkatalysierte Allylierung der 2'-Position und eine anschließende Bishydroxylierung waren. Martin *et al.* (Martin, 1996) synthetisierte 2'-Glycerol-2'-thymidin über die basenkatalysierte Umsetzung von geschütztem Thymidin mit Epichlorhydrin und anschließender Ringöffnung des Epoxides mit einem Alkohol unter Katalyse mit $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.

2.2. 2'-Carbamoylnukleoside

Wachter *et al.* (Wachter et al., 1986) beschrieben 1986 eine einfache Synthese von 5'-Carbamten des Uridins. Die 5'-OH-Gruppe des Uridins wurde mit 1,1'-Carbonyldimidazol (CDI) umgesetzt und das entstandene Imidazolid mit aliphatischen Aminen in das Carbamat überführt. Diese aliphatischen Carbamate sind auch unter den Reaktionsbedingungen der Oligonukleotidsynthese und -abspaltung (55 °C, NH₄OH) vom Harz stabil. Aus diesen Gründen, der einfachen Darstellung und auch der hohen Stabilität der Carbamate bei der Oligonukleotidsynthese, wurde diese funktionelle Gruppe in jüngster Zeit oft genutzt, um Biomoleküle (Biotin, Digoxigenin), Fluoreszenzmarker (Dansyl, Pyren) (Asseline und Thuong, 1990; Boreskov und Berlin, 1995; Civitello et al., 2001; Dubey et al., 1997; Korshun und Berlin, 1994; Kubo et al., 2001; Misra et al., 2004; Singh et al., 1990; Will et al., 1991), Peptide (Beyer et al., 2003; Gaur, 1991; Holmlin et al., 1999; Karpyshev et al., 1991; Kobori et al., 2008; Mestre et al., 1996; Murakami et al., 1993; Peyrottes et al., 1998; Sproat et al., 1987; Sproat et al., 1987; Virta et al., 2003) und viele andere Moleküle (Korshun et al., 2002) in Oligonukleotide einzuführen.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden Versuche zu Synthese von lipophilen Carbamoylnukleosiden unternommen. Ausgehend von 3',5'-geschütztem Uridin **20**, wurde dieses zuerst in hoher Ausbeute mit CDI und anschließend mit Octadecylamin zum Carbamat **50** umgesetzt (Dubey et al., 2000; Seio et al., 1998). Dies kann man entweder als Eintopfreaktion durchführen oder auch das Zwischenprodukt **49** isolieren und zu einem späteren Zeitpunkt mit dem Amin umsetzen. Die Anwendung von CDI zur Einführung von Carbamatfunktionen beruht auf der guten Fluchtgruppeneigenschaft der Imidazolreste, welche leicht durch Nukleophile ersetzt werden können. Da auch Carbamate unter bestimmten alkalischen Bedingungen zu einer 2',3'-Carbamoylwanderung neigen (Korshun et al., 2002), wurde das empfohlene Desilylierungsreagenz Triethylamintrihydrofluorid verwendet. Dieses ergab nach der Entschützung nur das O2'-Carbamt **51**.

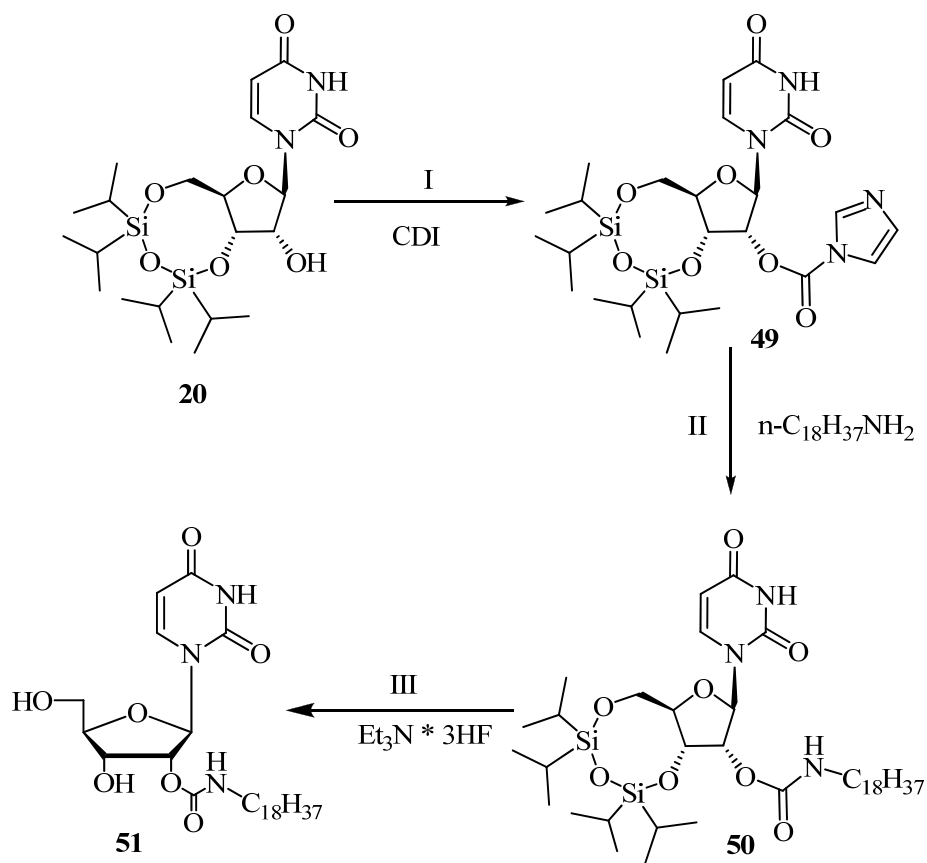


Abbildung 51: Synthese des O2'-(Octadecylcarbamoyl)uridin **51**: I) CDI, CH_2Cl_2 , 3 h bei RT, 97%; II) $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{NH}_2$, CH_2Cl_2 , 48 h bei RT, 78%; III) $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$, THF, 16 h bei RT, 77%

In der Literatur ist die Bildung solcher Carbamate auch mit sekundären Aminen, wie *N*-Methylpropargylamin beschrieben (Moorthy und Singhal, 2005), allerdings mit geringeren Reaktionsgeschwindigkeiten. In unseren Fall führte jedoch die Umsetzung des geschützten Imidazolids **52** mit dem aliphatischen sekundären Dioctadecylamin zu keinem Produkt. Gleiches wurde auch mit 2-Aminofluoren beobachtet.

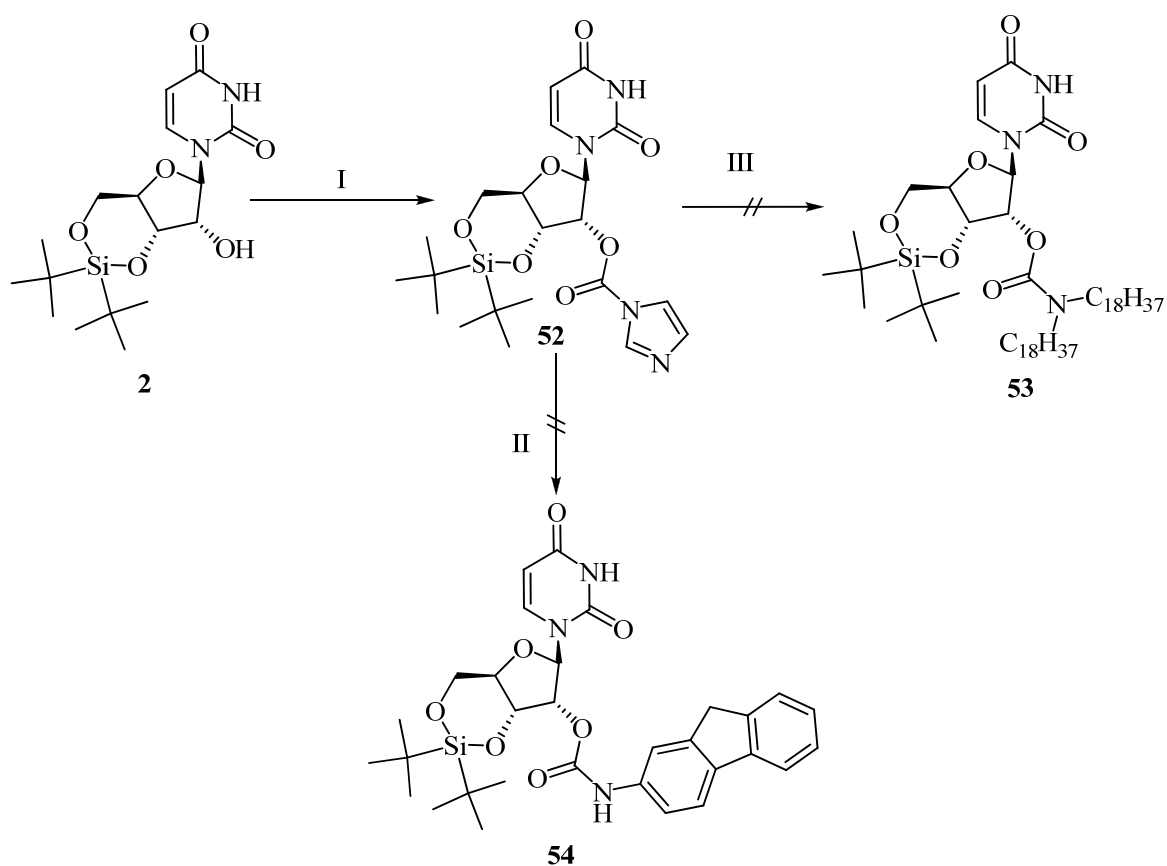


Abbildung 52: Umsetzung von **52** mit einem sekundären Amin und einem arylischen Amin: I) CDI, CH_2Cl_2 , 3 h bei RT, 95%; II) 2-Aminofluoren, CH_2Cl_2 , 14 d bei RT; III) Diocadecylamin, CH_2Cl_2 , 14 d bei 40°C

Wir vermuten, dass das Versagen der Reaktion auf sterische Gründe zurückzuführen ist und führten deshalb einen Linker zur Abstandsvergrößerung ein (s. Abb. 53). So gelang die Umsetzung des geschützten Imidazolid **52** mit 1,6-Diaminohexan zu **56** in 60%iger Ausbeute. Doch verwunderlicherweise blieb eine entsprechende Reaktion mit 1,4-Diaminobutan zu **55** aus. Versuche, die terminale Aminogruppe des Aminobutylcarbamates **56** mit 2.2 eq. Octadecylbromid in ein sekundäres Amin zu überführen, lieferte lediglich das monoalkylierte Produkt **57**. Nach der Entschützung von **57** konnte leider kein Produkt mehr isoliert werden.

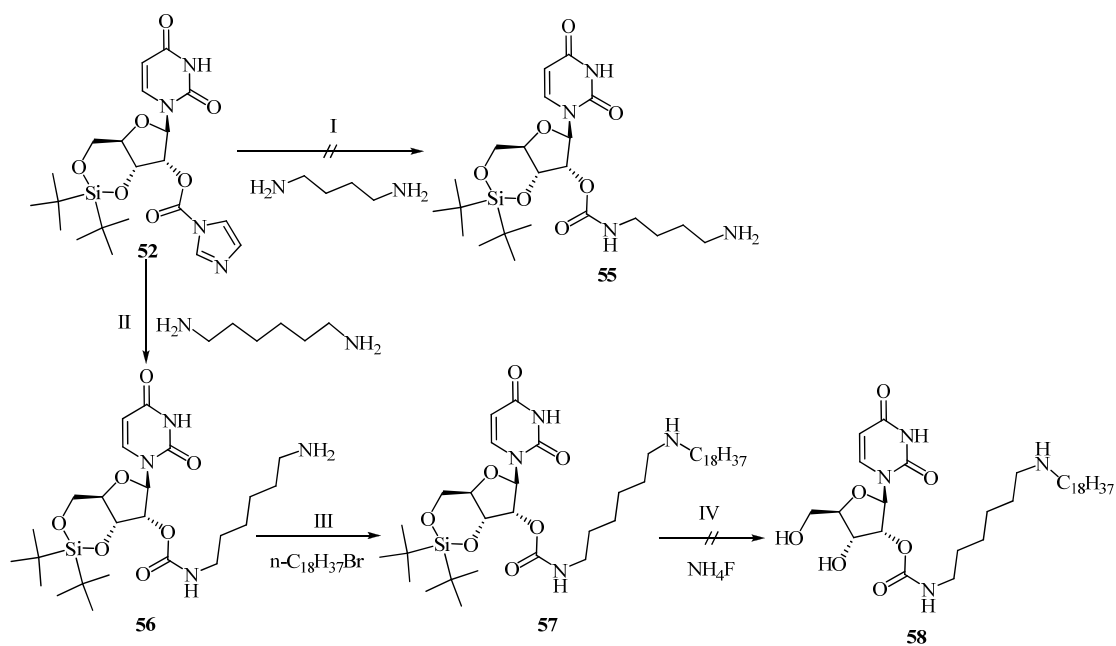


Abbildung 53: Synthese eine amphiphilen Carbamoyluridin mit Spacer: I) 1.5 eq. Butan-1,4-diamin, CH_2Cl_2 , 48 h bei RT; II) Hexan-1,6-diamin, CH_2Cl_2 , 48 h bei RT, 60%; III) 2.2 eq. Octadecylbromid, 3.0 eq. K_2CO_3 , DMF, 48 h bei RT, 88%; IV) $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$, MeOH, 16 h bei RT

Da diese Reaktionen nicht zum gewünschten Produkt führten, wurde versucht, die Kombination aus primärem Amin, Linker und terminalem Dioctadecylamin direkt mit dem Imidazolid umzusetzen. Zur Darstellung eines derartigen Konstruktes wurde zunächst Dioctadecylamin unter Rückfluss mit frisch destilliertem Acrylnitril zum 3-dioctadecylaminopropionitril **60** umgesetzt, welches anschließend mit LiAlH_4 (Davis, 2004; Giorgi et al., 2003; Gottarelli et al., 2000) oder $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Dorn et al., 1984) und NaBH_4 in das Amin reduziert wurde. Alternative Versuche die Reduktion des Nitriles durch $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ katalysierte Hydrierung vor zunehmen, schlugen fehl. Wird die Hydrierung in Essigsäure als Lösungsmittel durchgeführt, entsteht bemerkenswerterweise unter C-N-Bindungsknüpfung das Dipropyltriamin **63** mit vier Dodecylresten. Weitere Versuche das Nitril im Basischen mit Wasserstoffperoxid in das Acetamid zu überführen misslangen. Im Gegensatz verlief die Hydrolyse des Nitriles im sauren Medium quantitativ (Jones et al., 1990). Eine anschließende Reduktion von **62** mit $\text{BF}_3\cdot \text{OEt}_2$ und NaBH_4 (Satoh et al., 1969) scheiterte ebenfalls.

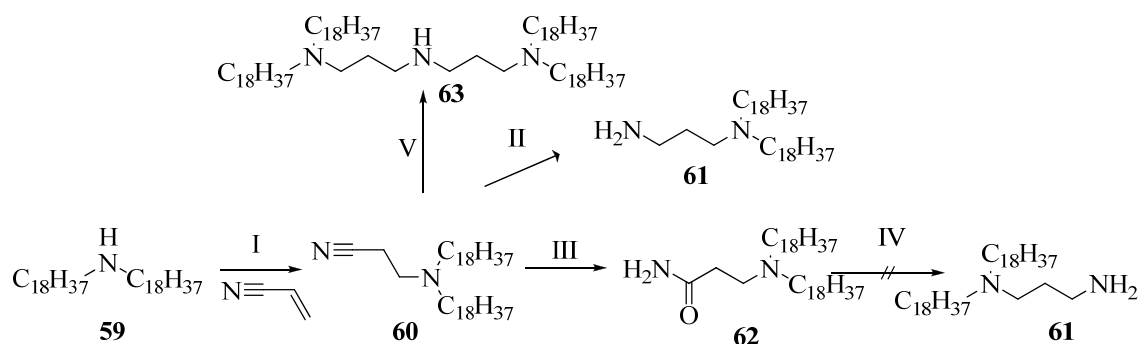


Abbildung 54: Synthese des N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61**: I) Acrylnitril, 18 h unter Rückfluss, Quant.; II) LiAlH_4 , Et_2O , 4 h unter Rückfluss, 87% oder $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, NaBH_4 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH}$ 5:1, 16 h bei RT, 90%; III) TFA, H_2SO_4 (konz.), 32 h bei 60°C , Quant.; IV) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, THF, 5 h unter Rückfluss und 16 h bei RT; V) $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, 1 atm H_2 , CH_3COOH , 16 h bei RT

Anschließend ließ sich das 3-Dioctadecylaminopropylamin **61** in 74% Ausbeute mit dem Imidazolid **49** umsetzen. Eine nachträgliche Entschützung mit $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ führte in 73% Ausbeute zu dem Zielprodukt **65**.

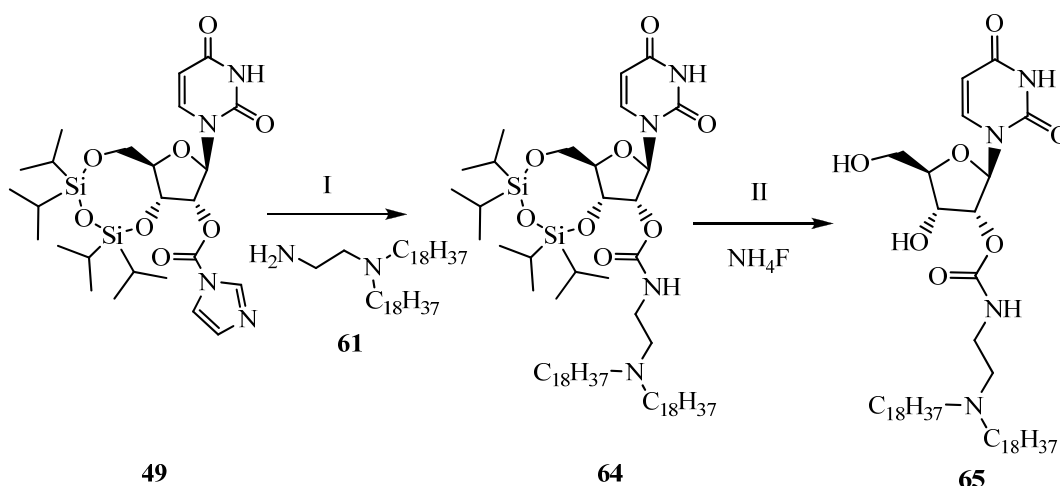


Abbildung 55: Synthese von $O2'-((\text{Dioctadecylamino})\text{ethylcarbamoyl})-2'-\text{desoxyuridin}$ **65**: I) N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin, CH_2Cl_2 , 21 d bei RT, 74%; II) $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$, 2 h bei RT, 73%

Für späterer AFM–Untersuchungen und auch für mögliche Untersuchungen von einzelnen Nukleosiden in Lipidmembranen, konnte mittels der Carbamatroute die Octadecylamingruppe auch in die anderen drei Nukleoside, des Adenosins, des Guanosins und des Cytidins eingeführt werden, so dass komplementäre lipophile Nukleoside zur Verfügung standen (s. Abb. 56). Die einzelnen Nukleoside wurden mit der TIPDSCI–Schutzgruppe an der $O3'$ - und $O5'$ -Position in guten Ausbeuten geschützt und anschließend in einer Eintopfreaktion zuerst mit CDI und das entstandene Carbamat anschließend mit dem Amin umgesetzt. Die geschützten Nukleolipide wurden in 45%–72% Ausbeute erhalten. Nach der Entfernung der Schutzgruppe mit Triethylamintrihydrofluorid wurden die gewünschten Nukleoside in moderaten bis guten Ausbeuten erhalten (s. Tab. 3). Die geringen Ausbeuten bei der Entschützung des Guanosins lassen auf supramolekulare Wechselwirkung dieses Amphiphiles zurückschließen. Denn es wurde zunächst eine geleeartige Masse isoliert, welche wahrscheinlich durch die Aus-

bildung von tetrameren Guanosin-Komplexen unter Einlagerung von Lösungsmittel zu erklären ist (Brown et al., 1958). Durch Trocknung dieses Geles im Vakuumtrockenschrank wurde **68b** als ein Feststoff gewonnen.

Tabelle 3: Einführung von Octadecylaminocarbamatgruppen in Adenosin, Guanosin, Cytidin

Nukleobasen (R)	Schritt I	Schritt II/ Schritt III	Schritt IV
Adenin (a)	80%	62%	76%
Guanin (b)	96%	55%	29%
Cytosin (c)	89%	45%	68%

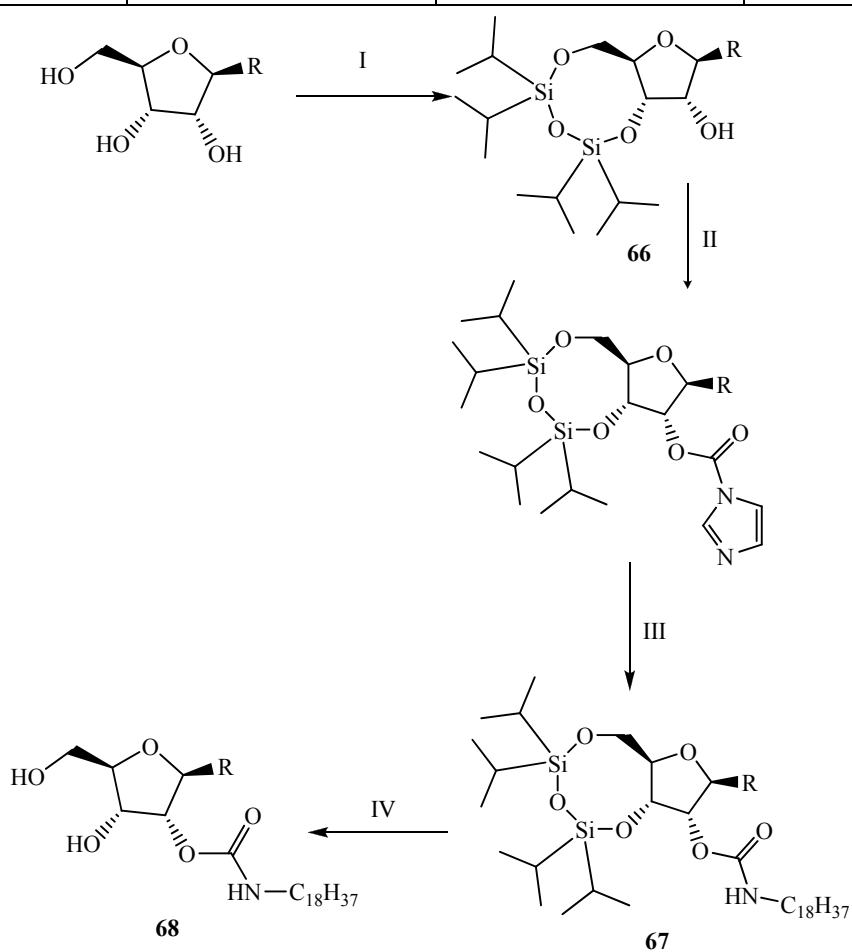


Abbildung 56: Synthese der O2'-(Octadecylcarbamoyl)nukleoside: R = Adenin, Guanin, Cytosin I) TIPDSCl, Pyridin, 24 – 48 h, 0°C - >RT; II) CDI, CH₂Cl₂, 24 – 72 h bei RT; III) C₁₈H₃₇NH₂, CH₂Cl₂, 48 h bei RT; IV) Et₃N•3HF, THF, 16 h bei RT

2.3. Synthese von Uridin-2'-Thioethern und Uridin-2'-Disulfiden

Das *O*2,*O*2'-Anhydrouridin erwies sich als eine gute Ausgangsverbindung zur Einführung weiterer nukleophiler funktioneller Gruppen in die 2'-Position des Uridins. Nach einer Vorschrift von Divakar *et al.* (Divakar und Reese, 1982) wurde es im Basischen mit 4-Methoxyphenylmethanthiol umgesetzt und anschließend das 4-Methoxytoluol im Säuren abgespalten. Dabei ist zu beachten, dass 2'-Thio-2'-desoxynukleoside oberhalb von pH 6.5 bei Raumtemperatur eine glykosidische Spaltung eingehen können (Johnson *et al.*, 1995). Es gelang weiterhin, die freie Thiolgruppe im Basischen mit verschiedenen Alkylbromiden in moderaten bis guten Ausbeuten zu alkylieren (s. Tab. 4). Da die meisten der verwendeten Alkylierungsesdukte nicht kommerziell erhältlich sind, wurden sie vorher aus den käuflich verfügbaren Substanzen dargestellt.

Der Dioctadecylether **71** wurde nach einer Vorschrift von Kates *et al.* (Kates *et al.*, 1963) aus DL-Benzylglycerol und Octadecylbromid im Basischen erhalten. Anschließend wurde die Schutzgruppe durch Hydrierung über Pd/C entfernt und die freie Hydroxylgruppe mit NBS/PPh₃ in quantitativer Ausbeute in das entsprechende Bromalkan **71** überführt. Nach der Umsetzung mit dem 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** konnte das Nukleolipid **70a**, welches zwei Alkylketten trägt, isoliert werden. Auch die Darstellung der Bromide **73** und **74** erfolgte durch Umsetzung mit NBS/PPh₃ aus den kommerziell erhältlichen *d*₃₃-Hexadecanol oder But-3-en-1-ol in quantitativer Ausbeute. Das resultierende 2'-(Hexadec-1-ylmercapto)-2'-desoxyuridin **70b** und das 2'-(*d*₃₃-Hexadec-1-ylmercapto)-2'-desoxyuridin **70c** wurden in NMR-spektroskopischen Untersuchungen eingesetzt, um die Beweglichkeit von Alkylketten in Lipidmembranen zu untersuchen (s. Abs. 2.9). In der Natur werden überwiegend zwei Anker verwendet, um Proteine oder Glykoside an Membranen zu binden. Von den Ankern ist gewöhnlich einer verzweigt. Aus diesem Grunde wurde zum einen 2'-Farnesylmercapto-2'-desoxyuridin **70e** und auch dessen gesättigtes längeres Analogon 2'-Phytanylmercapto-2'-desoxyuridin **70i** synthetisiert. Phytol wurde dabei mit Raney-Nickel in Methanol quantitativ zum Phytanol reduziert (Förting, 2008), welches nach der Umsetzung mit NBS/PPh₃ das gewünschte Produkt **79** in 91% Ausbeute liefert. Das eingesetzte Farnesylbromid ist kommerziell erhältlich. Cholesterol ist als wichtiger Bestandteil von Membranen für dessen Stabilität verantwortlich und beteiligt sich zusammen mit Proteinen auch an der Ein- und Ausschleusung von Signalstoffen. Aus dem Grunde wurde auch ein 2'-Cholesterylacetylmercapto-2'-desoxyuridin **70h** dargestellt und erfolgreich in Membranverankerungsversuchen eingesetzt (s. Abs. 2.9). Die Synthese des verwendeten Cholesterolderivates **78** erfolgte nach einer Vorschrift von Elenkov *et al.* (Elenkov *et al.*, 1995). Für spätere spektroskopische Untersuchungen wurden als Fluoreszenzmarker ein Pyrenderivat zu **70f** und ein Dansylderivat zu **70g** umgesetzt. Die Synthese von **77** ging von Dansylchlorid aus, welches zuerst im Basischen mit 1,6-Hexandiol quantitativ umgesetzt und anschließend die Hydroxylgruppe nach der schon erwähnten Vorschrift in das entsprechende Bromid überführt wurde. Pyrenbuttersäure wurde mit LiAlH₄ quantitativ reduziert (Nishihara *et al.*, 2005) und anschließend in das Bromid **76** überführt.

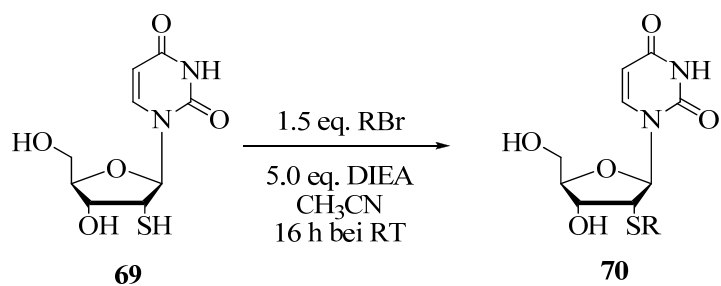
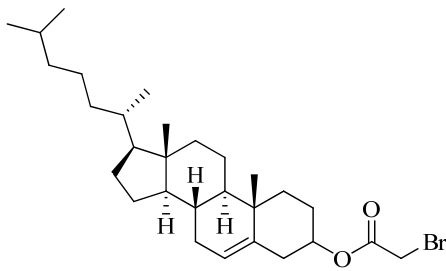
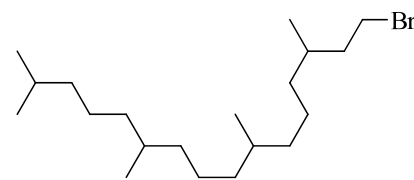


Abbildung 57: Allgemeine Synthese von 52'-alkylierten Thiouridinen

Tabelle 4: Alkylierung von 2'-Desoxy-2-thiouridinen

70	Edukt (R-Br)	Ausbeute
a)	<p style="text-align: center;">71</p>	13 %
b)	$\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{Br}$ 72	61 %
c)	$\text{C}_{18}\text{D}_{37}\text{Br}$ 73	75 %
d)	<p style="text-align: center;">74</p>	20 %
e)	<p style="text-align: center;">75</p>	81 %
f)	<p style="text-align: center;">76</p>	83 %
g)	<p style="text-align: center;">77</p>	67 %

h)	 <p style="text-align: center;">78</p>	29 %
i)	 <p style="text-align: center;">79</p>	42 %

Die Alkylierungen liefen mit stark variierten Ausbeuten, wobei kein Trend zu erkennen ist. Von 2'-Octadecylthiouridin **70b** gelang es, eine Einkristallstruktur zu erhalten, anhand derer man sehr gut den Einfluss des amphiphilen Charakters auf das supramolekulare Verhalten solcher Nukleolipide erkennt. Über Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten einerseits und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen *NH3* und *O4* und auch zwischen *C5'*OH und *O4* andererseits kommt es zur Bildung von Schichtstrukturen. Wobei die Alkylketten in zwei aufeinanderfolgenden Schichten um 120° zueinander verdreht sind.

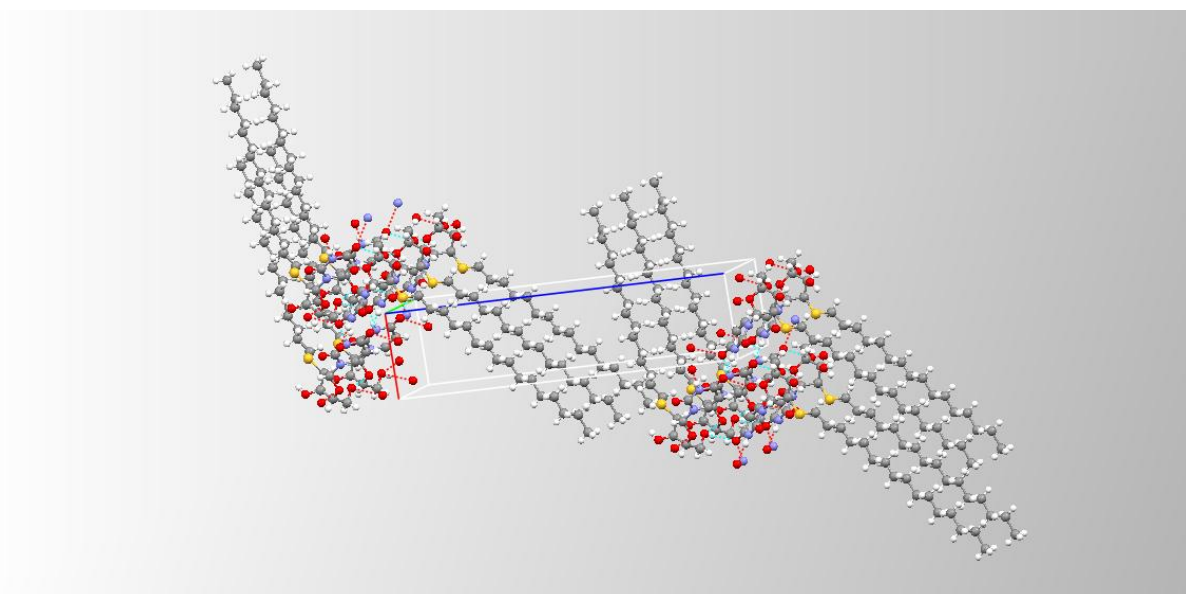


Abbildung 58: Einkristallstruktur von **70b**

Ozaki *et al.* (Ozaki et al., 2000) beschrieben auch einen direkten Zugang zu 2'-S-alkylierte Nukleosiden, indem sie *O2,O2'*-Anhydrouridin im stark Basischen direkt mit 1-Hexanthiol umsetzten. Jedoch ist diese Reaktion nur mit kürzerkettigen Alkylketten möglich. Ebenfalls durch Ozaki *et al.* (Ozaki et al., 2001) wurden Oligonukleotide, welche 2'-Methoxycarbonylmethylthio-2'-desoxyuridin enthalten, synthetisiert und nachträglich mit ver-

schieden Aminen (Heptylamin, Ammoniak, Diaminobutan) in die entsprechenden Carbamate überführt. Durch die Verwendung von 2'-S-tritylgeschützten 2'-Thio-2'-desoxyuridin in der Oligonukleotidsynthese konnten auch 2-Alkylthiooligonukleotide in einer Postmodifikation erhalten werden. Dabei wird die 2'-S-Tritylgruppe im Oligonukleotid mit Silbernitrat abgespalten und das entstandene Thiohydroxidion alkyliert. Zhu *et al.* (Zhu *et al.*, 2003) beschrieben die Synthese von „ladderoligomers“ (s. Abb. 59) in der Umsetzung von 2'-Thio-2'-desoxyuridin mit geschützten 3-(Brommethyl)pentan-1,5-diamin und auch dessen Carboxylanalogon. Nach der Einführung dieser S2'-alkylierten Nukleoside in die Oligonukleotidsynthese, wurden die freien Aminogruppen und Carboxylgruppen miteinander verknüpft.

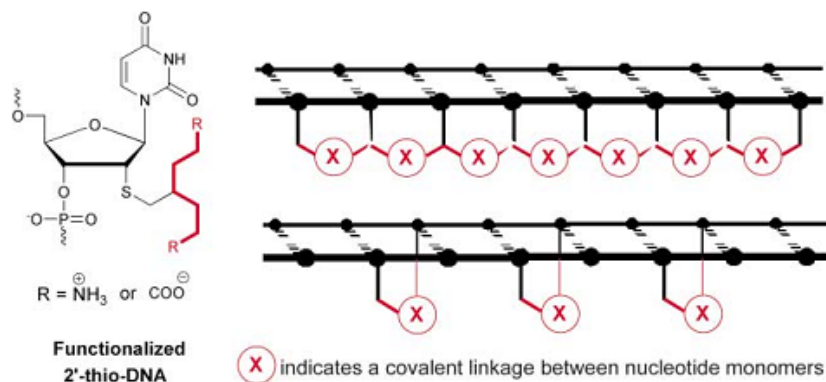


Abbildung 59: Verknüpfung von 2'-Thio-DNA-Monomeren zu „ladderoligomers“ (Zhu *et al.*, 2003)

Patel *et al.* (Patel *et al.*, 1980; Patel *et al.*, 1980) beobachteten bei ihrer Synthese des 2'-Thio-2'-desoxycytidin ausgehend von O2,O2'-Anhydro-1-β-arabinosylcytosin, dass es im basischen Medium am 2'-Thio-3'-phosphatnukleosid **80** zu einer Wanderung des Phosphatrestes in die 2'-Position kommen kann und sich 2'-Thiophosphatnukleoside bilden. Diese Reaktion würde im Oligonukleotid zum Strangbruch könnte (s. Abs. 2.8) (Dantzman und Kiessling, 1996).

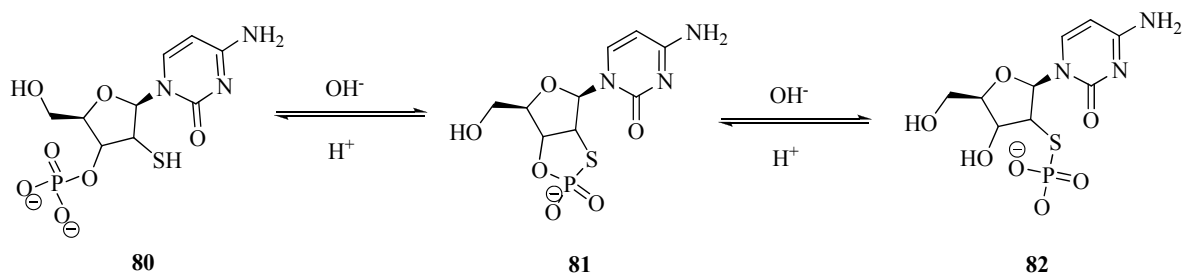


Abbildung 60: basische Überführung von 2'-Thio-3'-phosphatcytidin zum 2'-Thiophosphatcytidin

Neben der Umsetzung von 2'-Thio-2'-desoxyuridin mit Alkylbromiden zu den Thioethern ist auch die Bildung von Disulfiden denkbar. Es gibt mittlerweile mehrere Möglichkeiten (Witt, 2008) um unsymmetrische Disulfide darzustellen. Die klassischen Reaktionen sind der Thiolaustausch am Disulfid, die Umsetzungen von Sulfonylchloriden mit Thiolen oder von Benzylsulfenaten mit Alkylthiosilanen. Hierbei trägt meistens einer der Thiolpartner eine gute Fluchtgruppe. Weitere Beispiele sind die Pyridyldisulfide (welches zum Pyridin-(2(1H)-thion reduziert wird) oder die Benzylidisulfide. Auch Bis-(5,5-dimethyl-2-thiono-1,3,2-dioxaphosphorinanyl)disulfide (**83**), welche aus dem Thiol und dem Phosphorthioylsulfonylhalogen dargestellt werden, reagieren unter milden

Bedingungen mit Thiolen zu unsymmetrischen Disulfiden (Antoniow und Witt, 2007). *N*-Trifluoracetylarenesulfenamide (Bao und Shimizu, 2003) (**84**) oder benzotriazolierte Thiole (Hunter et al., 2006) (**85**) sind ebenfalls sehr effektive Vorstufen für die Synthese von arylischen und aliphatischen unsymmetrischen Disulfiden.

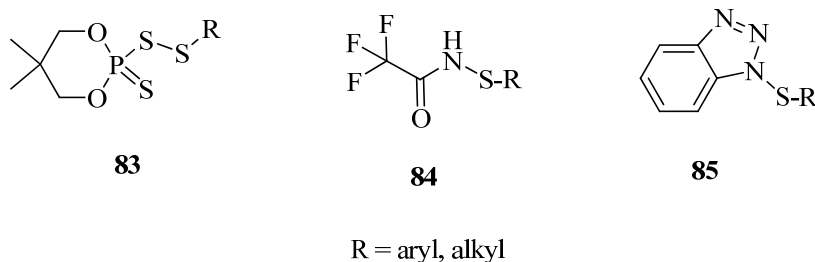


Abbildung 61: Vorläufer für die Synthese unsymmetrischer Disulfide

In einer Mitsunobu ähnlichen Reaktion (s. Abb. 62) unterstützen DIAD (Mukaiyam.T und Takahash.K, 1968; Wnuk et al., 2004) **86** oder das zyklische Analogon PTAD (Harusawa et al., 2004) **87** die Bildung solcher unsymmetrischen Disulfide. Diese Variante wurde auch von uns favorisiert und in den folgenden Synthesen verwendet.

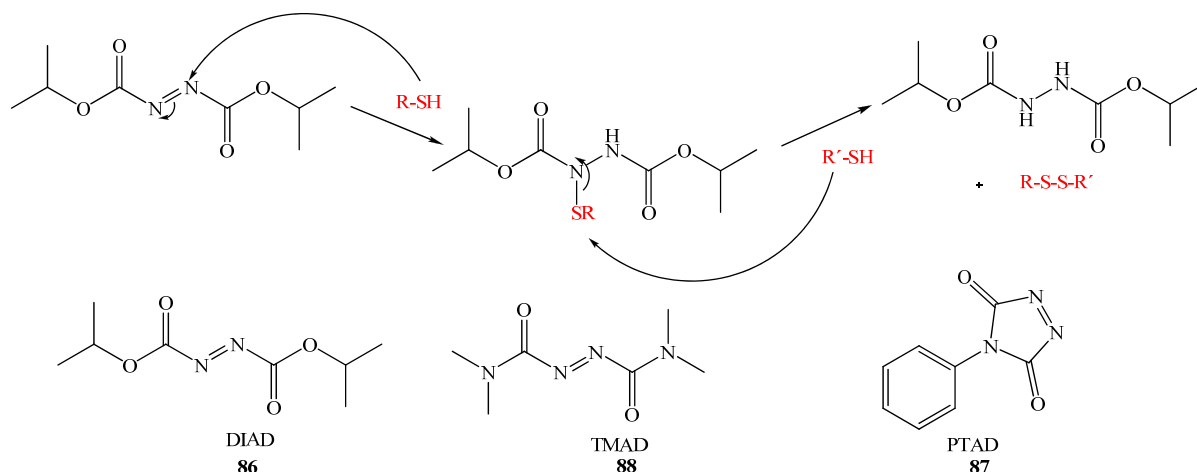


Abbildung 62: Mechanismus der Bildung des unsymmetrischen Disulfides am Beispiel des DIADs

Die Synthese des Disulfides **90** erfolgte zuerst durch die Umsetzung des 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** mit DIAD **86** und anschließend mit einem sehr großen Überschuss des Octadecylthioles in geringer Ausbeute. Durch Nutzung einer anderen Methode ließ sich das Disulfid **90** auch nach einer Vorschrift von Porcher *et al.* (Porcher et al., 2005) direkt aus dem Octadecylsulfenylchlorid (Seliger und Gortz, 1980) und dem *S*2'-(4-methoxybenzylmercapto)-2'-desoxyuridin **89** in einem Gemisch aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{COOH}$ (1:1, v:v) in 37% Ausbeute darstellen (s. Abb. 63). Eine Umsetzung mit PTAD und dem 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** in einem Gemisch aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{CN}$ (5:3, v:v) und der anschließenden Umsetzung mit dem 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** ergab lediglich die symmetrischen Sulfide. Zu dem gleichen Ergebnis kam man auch, wenn man als Lösungsmittel ein Gemisch aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{DMF}$ (3:2, v:v) oder nur Acetonitril verwendet. Erst ein Wechsel des Lösungsmittels zum Tetrahydrofuran brachte das gewünschte gemischte Disulfid **92** in guter Ausbeute.

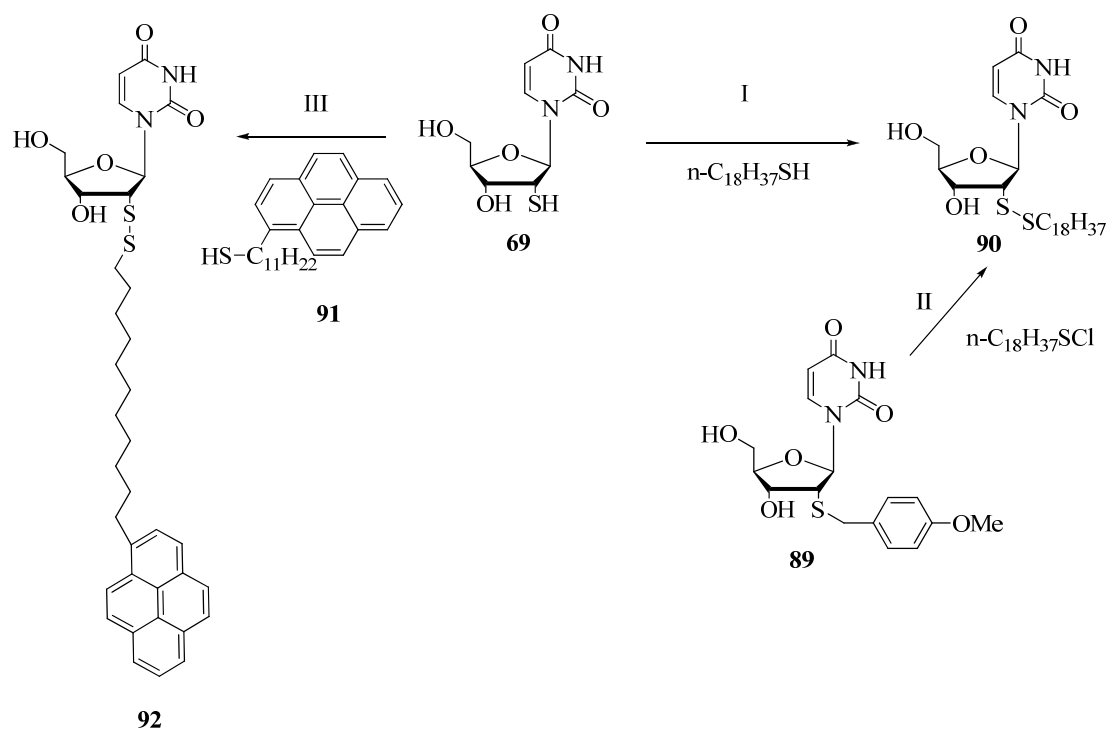


Abbildung 63: Synthese der unsymmetrischen Disulfide: I)a) 1.0 eq. DIAD, THF, 16 h bei RT; b) 20 eq. $C_{18}H_{37}SH$, 72 h bei RT, 25% über 2 Stufen; II) 5.0 eq. Octadecylsulfenylchlorid, $CH_2Cl_2:CH_3COOH$ 1:1, 62 h bei RT, 37%; III)a) 1.0 eq. PTAD, THF, 14 h bei 40°C; b) 2.0 eq. Pyen- $C_{11}H_{22}SH$, 24 h bei RT, 75%

Das als Edukt verwendete 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** wurde ausgehend von Pyren selbst hergestellt. Die Friedel–Crafts-Acylierung des 11-Bromundecansäurechlorid mit Pyren und $AlCl_3$ verlief quantitativ (Visscher et al., 2006). Ebenso die anschließende Überführung der Carbonylgruppe über eine Tosylhydrazinzwischenstufe nach einer Vorschrift von Zelikin *et al.* (Zelikin et al., 1999). Leider konnte nach der Reduktion der Zwischenstufe und einer darauf folgenden Umsetzung des Pyrenylundecylbromid mit Thioharnstoff kein Produkt isoliert werden.

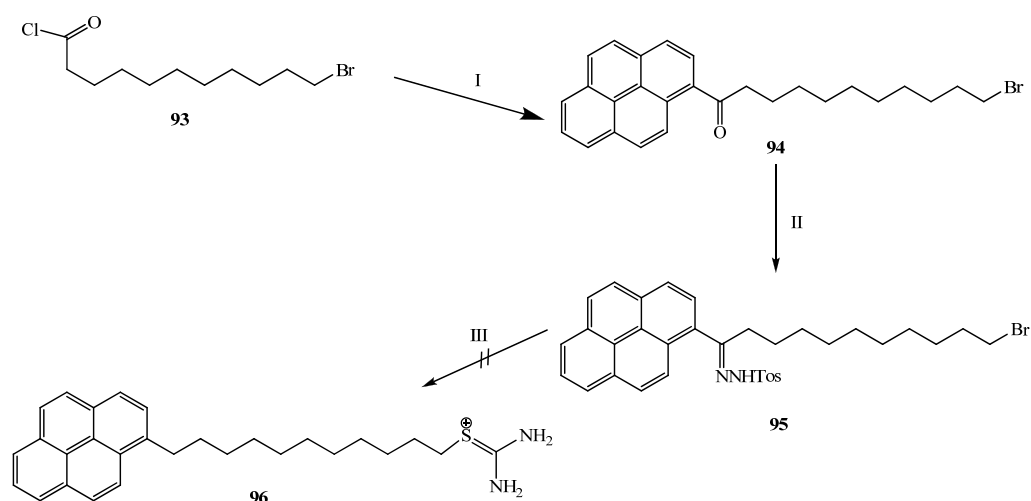


Abbildung 64: Versuche zur Synthese von 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan: I)a) 2.4 eq. SOCl₂, über Nacht bei RT; b) 0.9 eq. Pyren, 1.1 eq. AlCl₃, CH₂Cl₂, 0 °C -> 45 °C, 4 h, Quant. II) 2.0 eq. TosNHNH₂, DOWEX 50WX4 (H⁺), Benzol, 14 h unter Rückfluss, Quant. III)a) 5.0 eq. NaCNBH₃, CH₃COOH, 2 h bei 80 °C; b) 4.0 eq. NH₂C(S)NH₂, EtOH

Eine direkte Synthese des 11-Brom-1-(pyrenyl)undecans **97** gelang nach einer Vorschrift von Babu *et al.* (Babu *et al.*, 2007) (s. Abb. 65). In der in der ersten Stufe der Eintopfreaktion InCl₃ als Katalysator für die Friedel-Crafts-Acylierung zwischen dem Pyren und der Carbonsäure diente und in der zweite Stufe als Hilfsreagens für die Reduktion des entstandenen Ketons mit Dimethylchlorsilan. Dabei bildete sich das Produkt in 30% Ausbeute. Eine günstigere Variante ist die beschriebene Friedel-Crafts-Acylierung mit AlCl₃ und einer anschließenden Reduktion des Ketons **94** mit Et₃SiH in CF₃COOH nach einer Veröffentlichung von Nakamura *et al.* (Nakamura und Hara, 2002). Das Pyrenyldodecylbromid **97** wurde im Nachhinein mit KSac in das 11-Thioacetyl-1-(pyrenyl)undecan überführt. Eine anschließende basische Verseifung lieferte das Produkt **91** in guter Ausbeute, jedoch als Gemisch des Disulfides und des Thioles im Verhältnis 4:6.

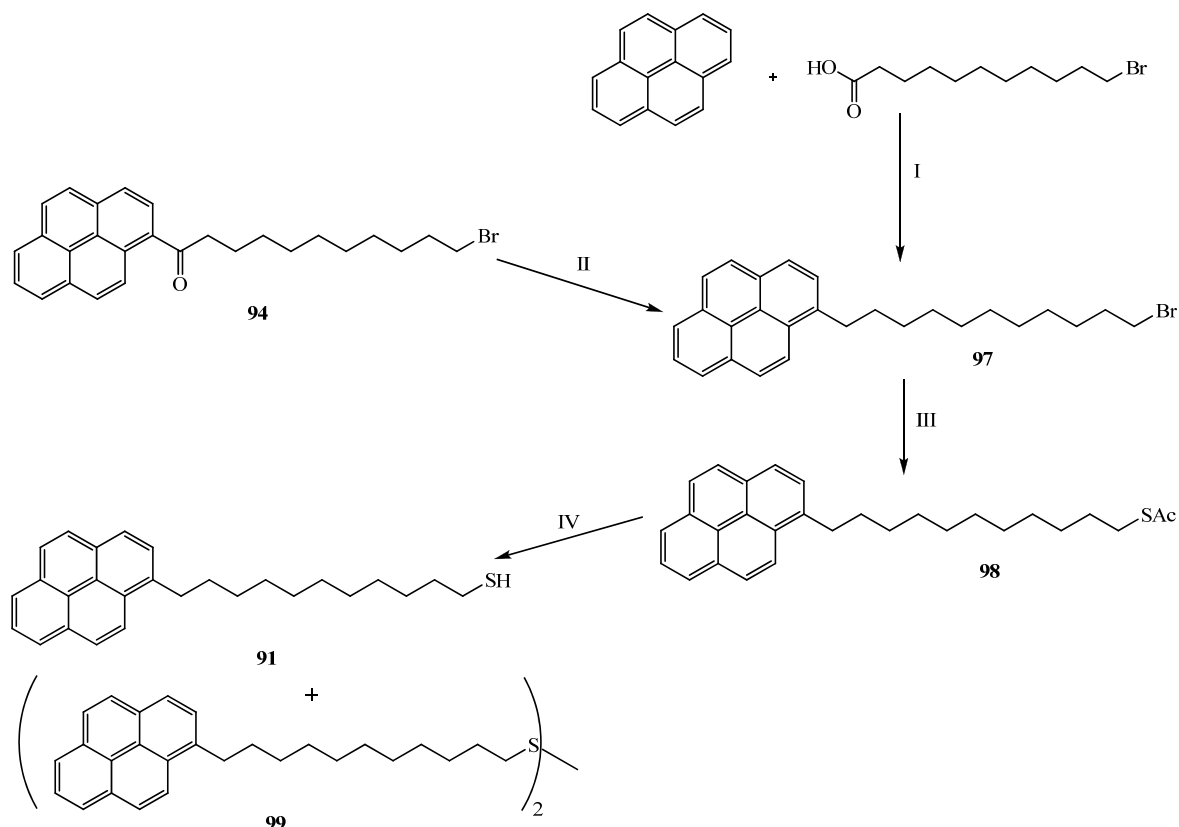


Abbildung 65: Synthese des 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan 91: I)a) 1.1eq. HSiMe₂Cl, 0.3 eq. InCl₃, 1,2-DCE, 8 h bei 80°C b) 3.0 eq. HSiMe₂Cl, 16 h bei RT, 30% II) Et₃SiH, CF₃COOH, CCl₄, 10 d bei RT, 57%; III) 2.0 eq. KSAc, THF, 16 h unter Rückfluss, 92%; IV) 7.0 eq. NaOH, 1-BuOH, 3 ½ h unter Rückfluss, 64%

Verschiedene Versuche (s. Tab. 5), das Disulfid **99** reduktiv mit Dithiothreitol nach Cleland (Cleland, 1964) quantitativ in das Thiol zu überführen, schlugen fehl. Weitere Möglichkeiten, wie TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphin) (Ruegg, 1977), Natriumborhydrid, Selenocystein (Selenol) (Singh und Kats, 1995) oder andere (Jocelyn, 1987) wurden nicht ausprobiert, da die Disulfidbildung zu 2'-((11-Pyrenyl) undecandisulfonyl)-2'-desoxyuridin **92** auch bei dem Einsatz eines Überschusses des Gemisches aus dem Thiol **91** und dem Disulfid **99** in guter Ausbeute gelang (s. Abb. 63),

Tabelle 5: Versuche zur reduktiven Spaltung des Disulfides **99** mit DTT

	Reaktionsbedingungen
a	DTT unter Argon in CH ₂ Cl ₂
b	DTT unter Argon in CH ₂ Cl ₂ / Et ₃ N
c	DTT unter Argon in DMF

Eine Erklärung für die leichte Bildung des pyrenhaltigen Disulfides liegt wahrscheinlich an der beobachteten Excimerenbildung des 11-Brom-1-(pyrenyl)undecans **97** (anhand der aufgenommenen Fluoreszenz-Absorptionsmessungen (s. Abb. 66)). Denn es ist bekannt, das Pyren, aufgrund des aromatischen Ringsystems,

ein angeregtes Dimer bildet (*excited dimer* = *excimer*). Bei der Excimerenbildung befinden sich ein Pyrenmolekül im Grundzustand und das andere Molekül im angeregten Zustand. Dadurch kommt es zu einer Veränderung der Emissionswellenlänge von ungefähr 380 für das Monomer auf 470 nm. Aus diesem Grunde werden Pyrene oder ihre Derivate häufig in der Biologie verwendet, um Abstände zwischen Biomolekülen zu bestimmen oder um eine Zellfusion nachzuweisen. Bei letzterer kommt es bei einer Fusion zweier Zellen (Vesikel) zu einer Verringerung der Konzentration des Pyrenlipides in der Membran und durch die daraus resultierende fehlende Excimerenbildung zu einer Veränderung der Emissionswellenlänge.

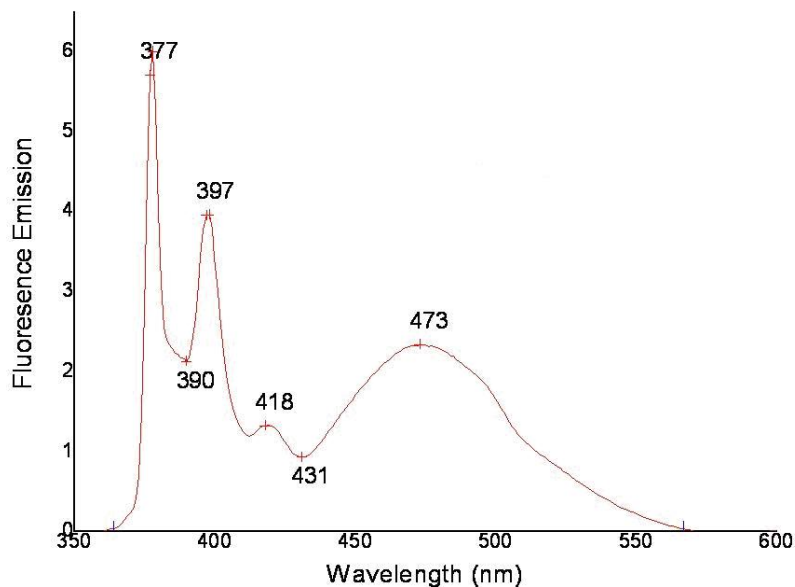


Abbildung 66: Aufgenommenes Fluoreszenzemissionsspektrum von **97** in Dichlormethan

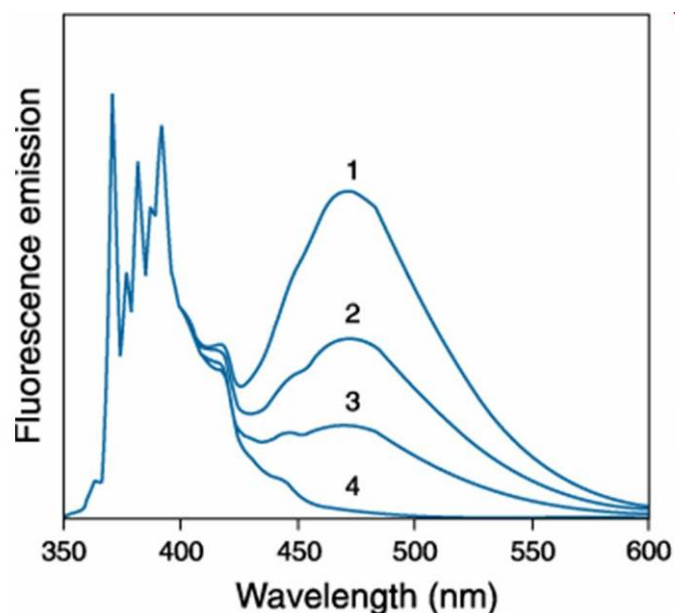


Abbildung 67: Excimerenbildung von Pyren in Ethanol. Spektrum ist auf 371.5 nm normalisiert 1) 2 mM Pyren mit Argon begast, um den Sauerstoff zu entfernen, 2) 2 mM Pyren unter Laborbedingungen, 3) 0.5 mM (Argonbegasung), 4) 2 μ M (Argonbegasung) aus *Invitrogen-Molecular Probes Handbuch*

2.4. „Click-Reaktionen“ an 2'-Azido-2'-desoxyuridin

Da sich in das *O*2,*O*2'-Anhydrouridin **41** bekanntermaßen leicht Azid einführen lässt (Kirschenheuter et al., 1994), wurde ins Auge gefasst, verschiedene lipophile Reste in Form der Alkine unter Bildung von 1,2,3-Triazole mit dem Nukleosid zu verknüpfen.

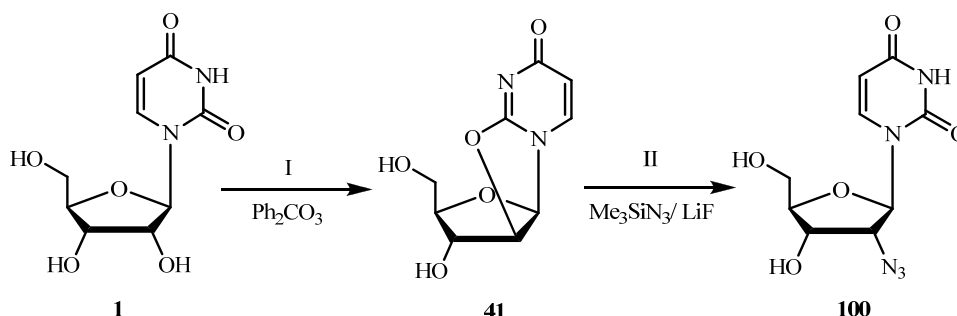


Abbildung 68: Darstellung des 2'-Azido-2'-desoxyuridins als die Azidkomponente

Die Huisgen 1,3-Dipolare Cycloaddition (Huisgen, 1963; Huisgen, 1984) von organischen Aziden und Alkinen ist eine direkte Methode, um 1,2,3-Triazole herzustellen. Dabei fungiert die Azidkomponente als 1,3 Dipol und das Alkin als Dipolarophil. Aufgrund der hohen Aktivierungsenergie (ca. 24-26 kcal/mol) sind diese Cycloadditionen, sogar bei relativ hohen Temperaturen (80-120 °C), oft sehr langsam (12-24 h) und ergeben Regioisomengemische von 1,4-substituierten bzw. 1,5-substituierten 1,2,3-Triazolen.

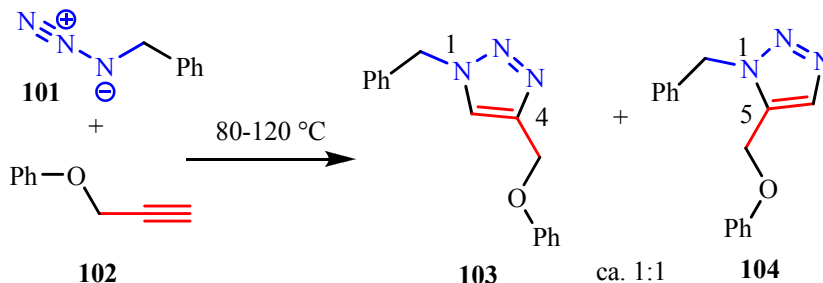


Abbildung 69: Regioisomerenbildung bei Azid-Alkin-Cycloaddition

Die Entdeckung, dass Kupfer(I)-Salze terminale Alkine mit Aziden effektiv und regioselektiv vereinen, ermöglicht eine Synthese von 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolen unter milden Bedingungen. Sie wird deshalb der so genannten „Click-Chemie“ zugeordnet und findet gegenwärtig in einem kaum zu überschauenden Maße Anwendung in der organischen und bioorganischen Chemie (Gil et al., 2007; Kolb et al., 2001; Rostovtsev et al., 2002) als Sharpless – Meldal - Clickreaktion.

Als Click-Reaktion bezeichnet man Reaktionen, welche modular und breit anwendbar sind, zu sehr hohen Ausbeuten führen und nur nicht störende Nebenprodukte liefern, die mit nichtchromatografischen Methoden einfach abgetrennt werden können. Außerdem muss die Reaktion stereospezifisch sein, unter einfachen Bedingungen ablaufen und sollte idealerweise nicht gegen Sauerstoff und Wasser empfindlich sein, sowie nur leicht erhältliche Ausgangsverbindungen und Reagenzien benötigen. Weiterhin sollten nur Lösungsmittel verwendet werden, die

einen bequemen Einsatz erlauben, die leicht entfernbar sind und eine einfache Produktisolierung ermöglichen. Die Click-Reaktionen beziehen ihre Charakteristika aus starken thermodynamischen Triebkräften, die normalerweise Energiegewinne von mehr als 20 kcal/mol liefern. Sie verlaufen schnell und bis zum vollständigen Umsatz und haben die Tendenz, selektiv nur ein Produkt zu liefern.

Cu(I)-Spezies können direkt in Form von Cu(I)-Salzen (CuI, CuOTf•C₆H₆, [Cu(NCH₃)₄][PF₆]) oder aber als Präkatalysator in Form von Cu(II)Salzen in die Reaktion eingebracht werden. Sogar ein leicht korrodierter Kupferdraht kann verwendet werden (Jawalekar et al., 2008). Diese Cu(I)-Salze benötigen, wenn katalytisch eingesetzt, in den meisten Fällen ein Äquivalent einer stickstoffhaltigen Base (z.B. 2,6-Lutidin, Triethylamin, Diisopropylethylamin, Pyridin oder TBTA (Chan et al., 2004)), welche die Oxidationsstufe +1 am Kupfer stabilisieren.

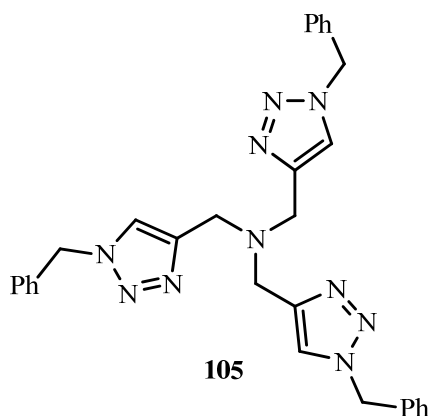


Abbildung 70: TBTA (Tris[1-benzyl-1H-(1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin) **105**

Cu(II)-Salze hingegen sind meist billiger und reiner als Cu(I)-Salze. Sie werden *in situ* durch Ascorbinsäure oder Natriumascorbat zur Cu(I)-Spezies reduziert und ermöglichen ebenfalls eine große Bandbreite von 1,4-Triazolprodukten in hohen Ausbeuten und Reinheit bei einer Katalysatormenge von 0.25-20 mol%. Als Beispiel sei hier CuSO₄•5H₂O genannt. Die in Abbildung 69 dargestellte Reaktion von Phenylpropargylether und Benzylazid verläuft in Anwesenheit von 5 mol% Natriumascorbat und 1 mol% Kupfer(II)-sulfat in einer 2:1 Mischung aus Wasser und *tert*-Butanol quantitativ zum 1,4-Isomer in wenigen Minuten. Zum Vergleich, ergibt die thermische Reaktion (92 °C, 18 h) dieser beiden Substrate beide Regioisomere im Verhältnis 1.6:1 zu Gunsten des 1,4-Isomers.

Ein mechanistischer Vorschlag für den Katalysezyklus der Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) ist in Abbildung 71 gezeigt (Rostovtsev et al., 2002). Er beginnt wie erwartet mit der Bildung des Kupfer(I)-acetylen **I** im Schritt **A**. Aufwendige Dichtefunktionaltheorie-Berechnungen ergaben, dass die konzertierte [3+2]-Cycloaddition (**B-direkt**) energetisch sehr ungünstig ist (12-15 kcal/mol) und deuten eher auf eine schrittweise Sequenz über **II** und **III** zu **IV** hin (**B1-B2-B3**). Hierbei wird das Azid durch die Koordination an dem Kupfer aktiviert (**II**, Schritt **B1**). Danach konvertiert **II** in einen ungewöhnlichen 6-gliedrigen Kupfer-Metallzyklus **III**. Nach einer Ringkontraktion entsteht die Zwischenstufe **IV**, welche anschließend in das Produkt zerfällt und den Katalysator freigibt. Die Regioselektivität wird im Schritt **B2** festgelegt und durch die Koordination des Azids bzw. des Alkins am Kupfer zum 1,4-substituierten Triazol gelenkt.

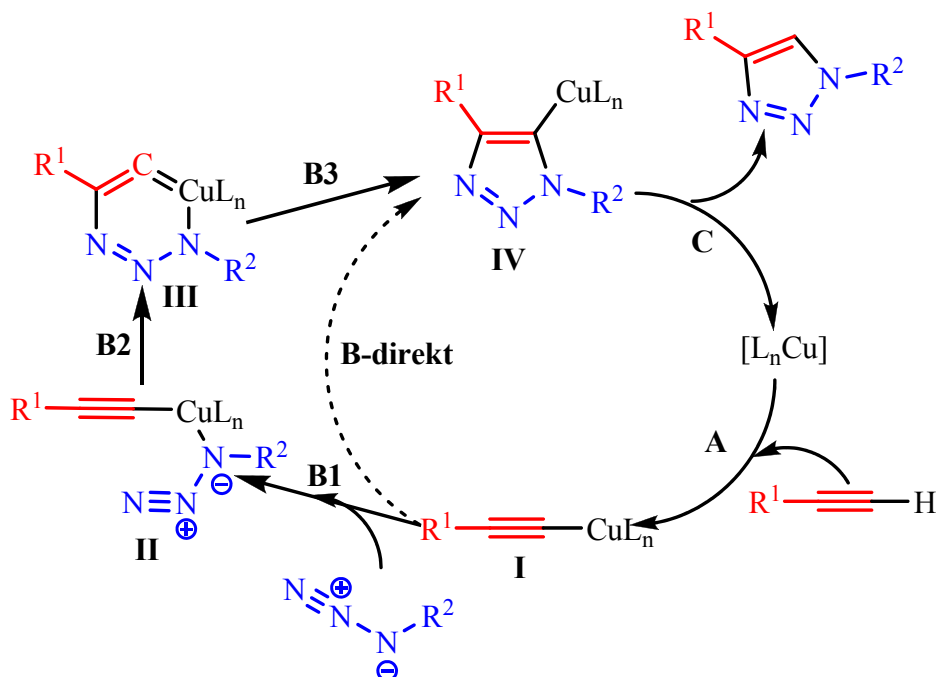


Abbildung 71: vorgeschlagene Katalysezyklen für die CuAAC (Rostovtsev et al., 2002)

Weitere Möglichkeiten zur Darstellung solcher 1,2,3-Triazole sind unter anderem die von Barluenga *et al.* (Barluenga et al., 2006) dargestellte palladiumkatalysierte Umsetzung von Alkenbromiden mit Aziden. Auch die Reaktion von Enolethern mit Aziden führte unter lösungsmittelfreier Synthese bei hohen Temperaturen zu den 1,2,3-Triazolen (Roque et al., 2005). In einer Eintopfreaktion war es möglich, Amine mit Alkinen in der CuAAC zu den entsprechenden 1,2,3-Triazole umzusetzen (Barral et al., 2007). Dabei wurde das Amin mit *tert*-Butylnitrit und Azidotrimethylsilan in das Azid, welches ohne weitere Aufarbeitung mit dem Alkin reagieren kann. Es ist auch möglich, andere Regioisomere selektiv zu synthetisieren. Beispielsweise bildet sich das 1,5-disubstituierte 1,2,3-Triazol mit Alkyl-Magnesium-Grignard-Verbindung (Liu et al., 2005) oder mittels eines Ru(II)-Katalysators (Zhang et al., 2005). Ein weiterer Vorteil der Rutheniumkatalyse ist es, dass sowohl terminale als auch interne Alkine reagieren. Weiterhin können, je nach Wahl bestimmter Ru-Komplexe, beide Regioisomere (1,4- bzw. 1,5-Isomer) selektiv hergestellt werden. Im Gegensatz hierzu reagieren bei der CuAAC nur die terminalen Alkine.

Aufgrund der leichten Durchführbarkeit, der hohen Stereoselektivität und auch der guten Ausbeuten der CuAAC wird diese Reaktion auch vermehrt in der bioorganischen Chemie verwendet. So nutzten Nakane *et al.* (Nakane et al., 2008) die Cycloaddition, um ein Hairpin-Oligonukleotid oder ein Oligonukleotid-Duplex in ein *Dumbbell*-Oligonukleotid zu überführen (s. Abb. 72). Dabei bauten sie jeweils ein *N*3-(Propargyl)thymidin und ein *N*3-(Azidoethyl)thymidin in die Oligonukleotide während der Festphasensynthese ein und ließen anschließend, mit Hilfe von Kupfer(II)sulfat, TBTA und Natriumascorbat, das fertige Oligonukleotid eine 1,3-dipolare Cycloaddition eingehen. Diese Oligonukleotide zeigen eine hohe thermische Stabilität und eine exzellente Stabilität gegenüber Nukleasen. Außerdem können sie als *Decoy* („Köder“)-ODN eingesetzt werden, d.h. sie fangen in der Zelle spezifische Transkriptionsfaktoren ab und binden diese, so dass sie nicht mehr für die Transkription zu Verfügung stehen (Bielinska et al., 1990; Li et al., 2007).

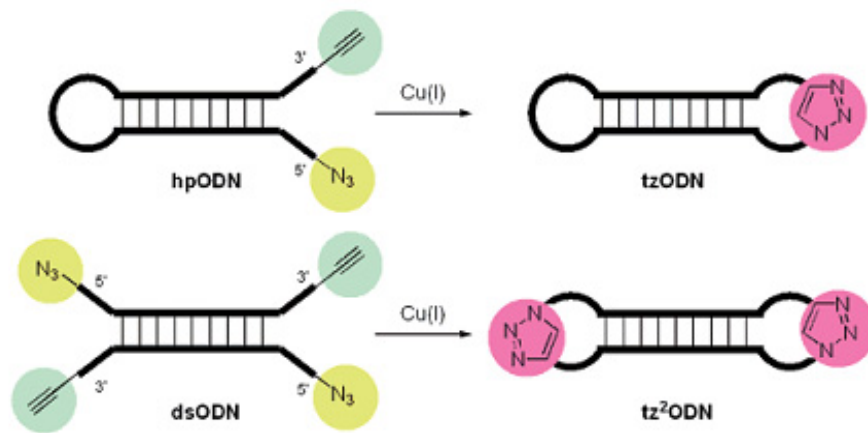


Abbildung 72: Darstellung von „Triazol-cross-linked-ODN“ nach Nakane *et al.* (Nakane et al., 2008)

Mittels der Click-Reaktion konnten Jatsch *et al.* (Jatsch et al., 2008) die positiven Eigenschaften von Polythiophenen (exzellente organische Semikonduktoren) und von Nukleosiden (molekulare Erkennung durch Watson–Crick-Basenpaarung) vereinen.

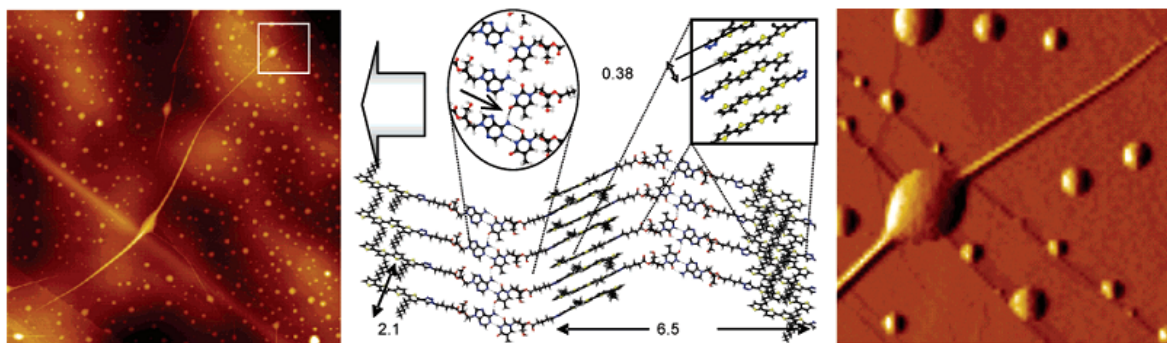


Abbildung 73: AFM-Bilder der 1:1 Mischung des Adenosinquarterthiophen und des Thymidinquarterthiophen

Gramlich *et al.* (Gramlich et al., 2008; Gramlich et al., 2008) nutzen die Reaktion, um ein Galactoseazid mit einem Oligonukleotid zu verknüpfen. Dabei synthetisierten sie das ODN mittels der PCR-Technologie, in dem sie drei natürliche Nukleotide und ein Nukleotid mit einer terminalen Alkylgruppe an der Base (5-Position bei den Pyrimidinen und 7-Position an den Purinen) umsetzten.

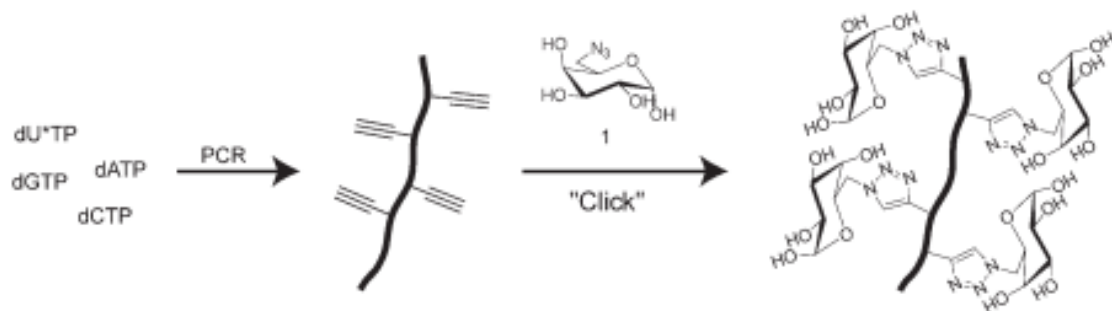


Abbildung 74: Synthese von galactose-modifizierten Oligonukleotiden durch die Click-Reaktion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde nun erstmals versucht, das 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** mit verschiedenen lipophilen Alkinen zu den entsprechenden 2'-Triazolyl-2'-desoxyuridin **106** umzusetzen (s. Abb. 75). Dazu wurden verschiedene Synthesewege im Rahmen einer studentischen Forschungsarbeit (LIT) untersucht (s. Tab. 6). Zum einen war es die Umsetzung mit einem Kupferdraht nach einer Vorschrift von Jawalekar *et al.* (Jawalekar et al., 2008). Diese führte weder für das Dodecin, noch das eingesetzte Propargylcholesterol zu einem Produkt. Die Umsetzung des Dodecin, wie auch des Propargylcholesterol mit **100** lieferte jedoch unter CuI katalysierten Reaktionsbedingungen das Produkt **106a** und **106c**, wenn auch in schlechten Ausbeuten. Hierbei zeichnete sich ein Trend ab. Im Falle des Dodecin verwendeten wir 40 mol% CuI, im Fall des Propargylcholesterols nur 12.5 mol% CuI, was sich auch in der schlechteren Ausbeute (58% vs. 23%) widerspiegelte. Die Verwendung von 5 eq. CuI (Hanelt und Liebscher, 2008) brachte im Falle des Propargylcholesterol eine Ausbeute von 69%. Eine in der Literatur häufig verwendete Katalysemethode beruht auf der *in situ* Generierung von Cu(I) aus Kupfer(II)sulfat und Ascorbinsäure. Diese führte im Falle des Dodecylderivates **106c** bzw. des Cholesterolderivates **106a** zu einer ähnlichen Ausbeute, wie die Verwendung von CuI, jedoch bereits bei wesentlich kürzeren Reaktionszeiten.

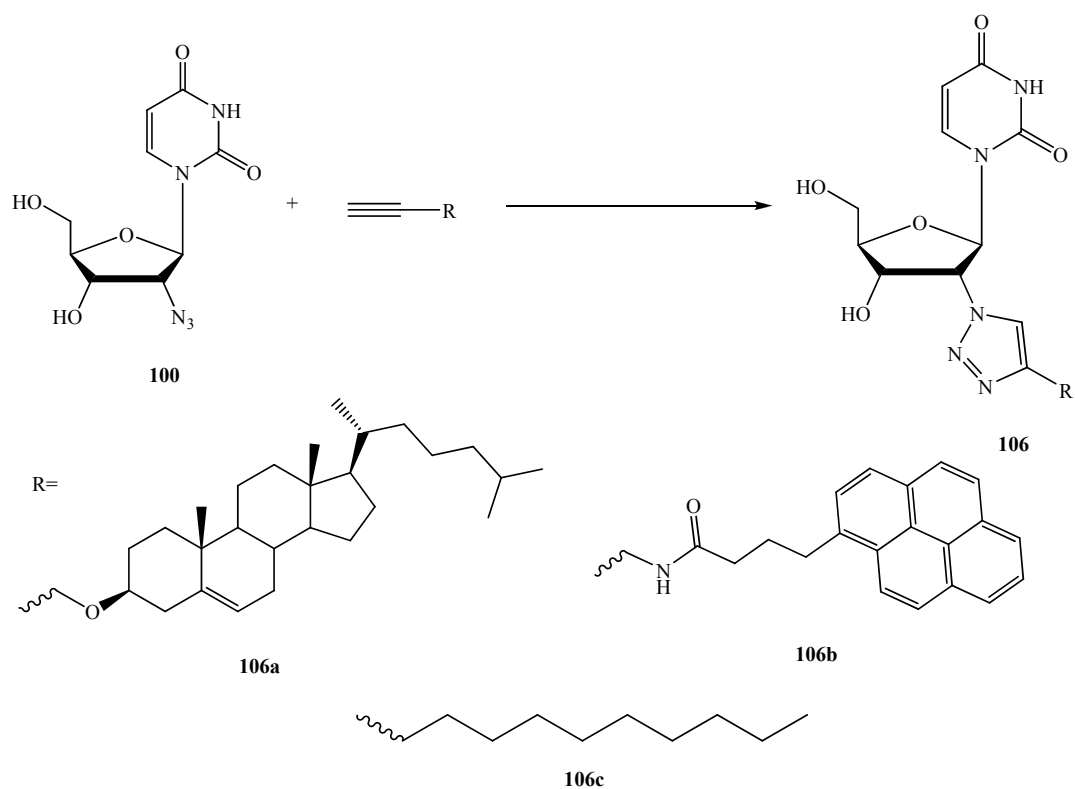
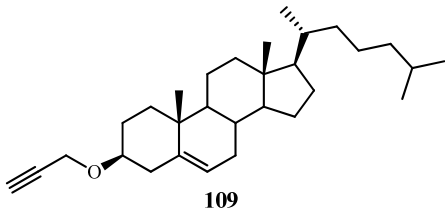
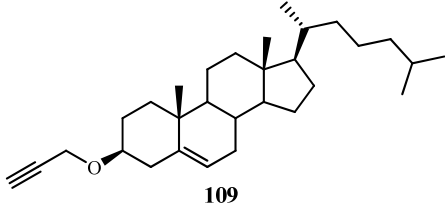
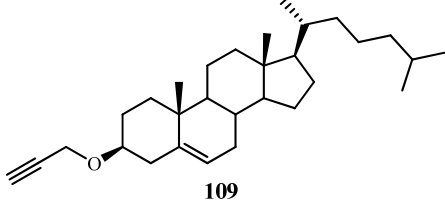
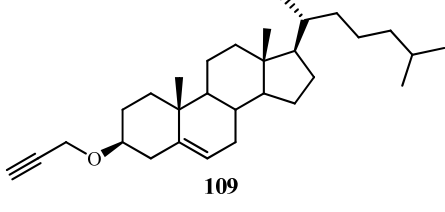
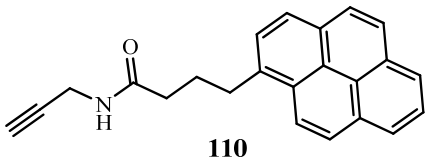


Abbildung 75: Darstellung der synthetisierten N2'-(4-(*n*-alkyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2'-desoxyuridine

Tabelle 6: Synthesewege zur Darstellung der N2'-(4-(*n*-alkyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-2'-desoxyuridine

	Edukt	Reaktionsbedingungen	Produkt/ Ausbeute
1	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$ 108	Kupferdraht, AcCN/H ₂ O, 72 h bei 35°C	106c / -
2	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$ 108	40 mol% CuI, AcCN/H ₂ O, 72 h bei 35°C	106c / 58 %
3	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$ 108	40 mol% Natriumascorbat, 20 mol% CuSO ₄ •5H ₂ O, Me- OH, 16h bei RT	106c / 52 %

4	 <p>109</p>	<p>Kupferdraht,</p> <p>AcCN/H₂O,</p> <p>72 h bei 35°C</p>	<p>106a/</p> <p>-</p>
5	 <p>109</p>	<p>12.5 mol% CuI,</p> <p>AcCN/H₂O,</p> <p>72 h bei 35°C</p>	<p>106a/</p> <p>23 %</p>
6	 <p>109</p>	<p>5 equiv. CuI, AcCN/H₂O,</p> <p>72 h bei 35°C</p>	<p>106a/</p> <p>69%</p>
7	 <p>109</p>	<p>40 mol% Natriumascorbat,</p> <p>20 mol% CuSO₄•5H₂O, Me-</p> <p>OH, 16h bei RT</p>	<p>106a/</p> <p>52 %</p>
8	 <p>110</p>	<p>40 mol% CuI,</p> <p>AcCN/H₂O,</p> <p>72 h bei 35°C</p>	<p>106b/</p> <p>12 %</p>

2.5. Reaktionen an 2'-Amino-2'-desoxyuridin

Eine weitere Möglichkeit, lipophile Reste in die 2'-Position von Nukleosiden einzuführen, sahen wir in der Synthese von 2'-Acylamidouridinen durch Umsetzung von 2'-Amino-2'-desoxyuridin und einem Carbonsäurederivat. Die Synthese des 2'-Amino-2'-desoxyuridin erfolgte über eine intramolekulare Cyclisierung von Trichloracetimidat nach einer Vorschrift von McGee *et al.* (McGee *et al.*, 1996). Anschließend wurde die 3'-Position für eine folgende 2'-Amidierung mit TBDMSCl quantitativ geschützt. Jedoch führte weder die Umsetzung von **113** mit Palmitinsäure und DCC/HOBT, noch mit Palmitinsäure und EDC/DMAP zum Produkt **115**. Die Umsetzung von **113** mit Ölsäurechlorid in CH₂Cl₂ mit der Base Triethylamin, erbrachte schließlich das Produkt **114** in 41% Ausbeute. Diese Methode wurde in unserem Arbeitskreis weiterentwickelt, so dass sich herausstellte, dass die Verwendung von NaOAc bessere Ausbeuten ergab (Kaczmarek *et al.*, 2008). Einen sehr guten Übersichtsartikel über die Synthese und auch deren Eigenschaften von Acylamidonukleosiden gaben Richert und Grimfeldt (Richert und Grilmefeld, 2007).

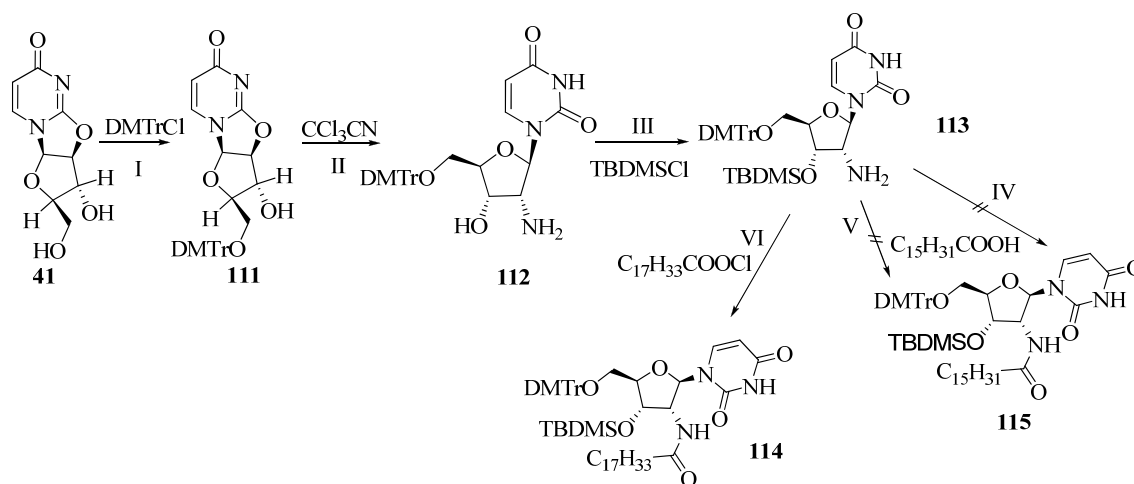


Abbildung 76: Synthese von 2'-Amidouridinen: I) DMTrCl, DMAP, Pyridin, über Nacht bei RT, 90%; II)a) Cl₃CCN, NaH, 18 h bei 90°C, 68%; b) 6 N NaOH, EtOH, 16 h unter Rückfluss, 57%; III) 2.0 eq. TBDMSCl, 8.3 eq. DBU, CH₂Cl₂, 16h bei RT, Quant. IV) n-C₁₅H₃₁COOH, DCC, HOBT, DMF, 16 h bei RT; V) n-C₁₅H₃₁COOH, EDC, DMAP, CH₂Cl₂, 16 h bei RT; VI) n-C₁₇H₃₃COOH, Et₃N, CH₂Cl₂, 4 h bei RT, 41%

Als eine Alternative zur Einführung von lipophilen Resten in die Aminogruppe von 2'-Amino-2'-desoxyuridin verfolgten wir die reduktive Aminierung. Wengel *et al.* (Christensen *et al.*, 2003; Rosenbohm *et al.*, 2003) führten über eine reduktive Aminierung 1-Pyrenicarboxaldehyd in das 2'-Amino-2'-desoxyuridin **112** ein, um eine zusätzliche Stabilität der Duplexbildung mittels der Excimerenbildung des Pyrens zu erzielen. Bugaut *et al.* (Bugaut *et al.*, 2004) nutzen die 2'-Aminogruppe für eine Postmodifikation des Oligonukleotides durch kombinatorischen Einsatz verschiedener Aldehyde in einer reduktiven Aminierung. In Analogie zu einer Vorschrift von Wengel *et al.* gelang es **116** in 90% Ausbeute darzustellen (s. Abb. 77). Der zwei Octadecylreste tragende Glycerinaldehyd **118** lieferte dagegen nur in 12% Ausbeute das gewünschte Produkt **119**. Die geringere Ausbeute von **119** gründet sich wahrscheinlich auf das verwendete heterogene Lösungsmittelgemisch.

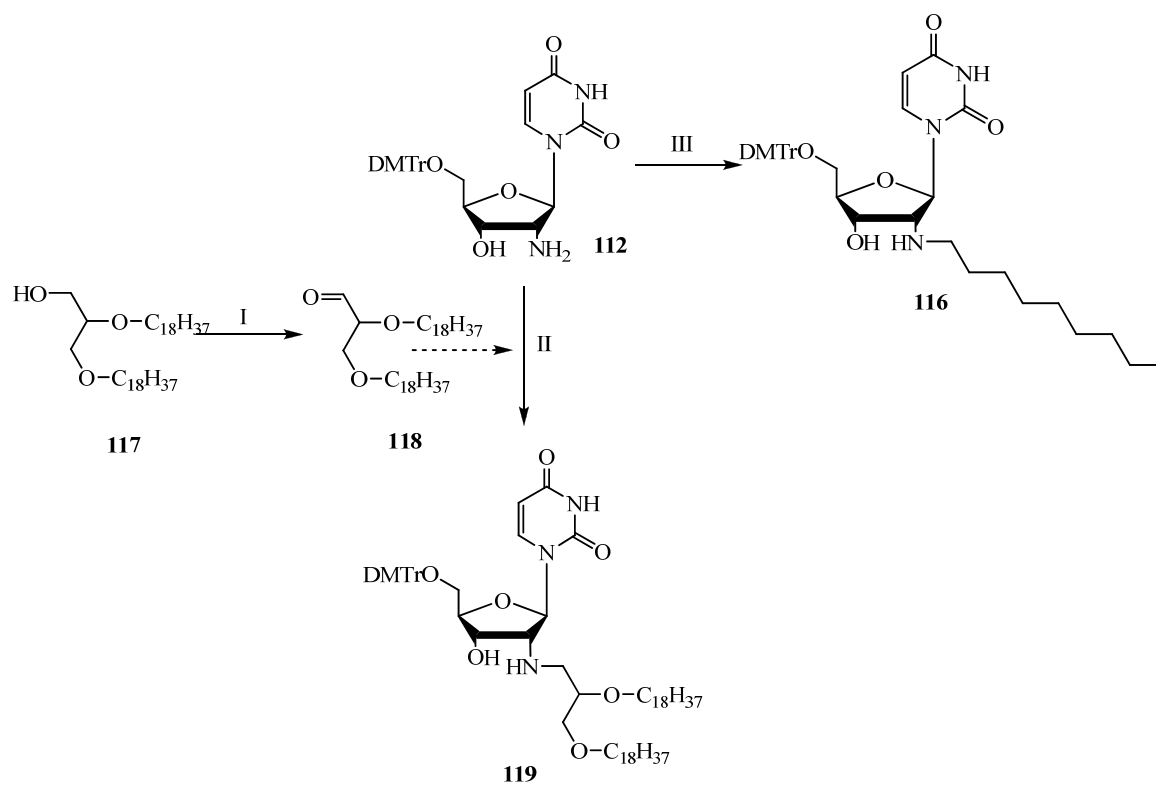
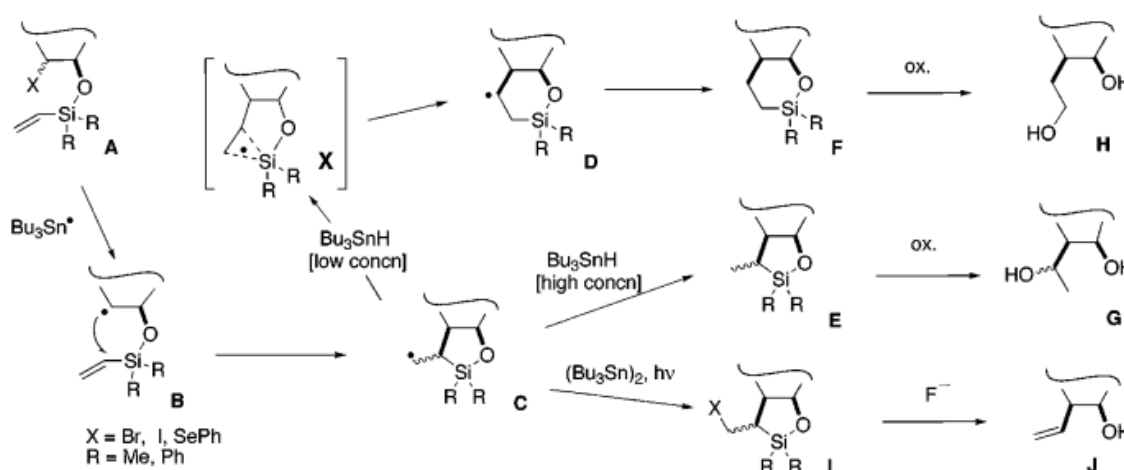


Abbildung 77: Synthese von 2'- Aminouridinen: I) Dess-Martin-Reagenz, CH₂Cl₂, 4 ½ h, 0°C ->RT, Quant.
 II) 0.3 eq. NaCNBH₃, MeOH: CycH (2:1, v:v), über Nacht 0°C ->RT, 12%; III) Nonanal, 0.3 eq. NaCNBH₃,
 MeOH, über Nacht 0°C ->RT, 90%

2.6. Kreuzkupplungen an 2'-Iod-2'-desoxyuridin

2'-C- α -Hydroxyalkylsubstituierte Nukleoside werden seit einiger Zeit in den verschiedensten Bereichen der Biomedizin (Antisense- oder siRNA-Technologie) eingesetzt, denn sie bilden stabilere Doppelstränge als unmodifizierte DNA und sind gegenüber der Nukleasedegradation (Ora et al., 2005) resistent. Die Synthese solcher 2'-C- α -Hydroxyethylnukleoside (z.B. Uridin) erfolgt meist über eine radikalische Reaktion. Zuerst wird 3'-5'-geschütztes Uridin in den 2'-Phenylthiocarbonsäureester überführt und dieser mit Hilfe von AIBN und Allyltributylzinn in das 2'-C- α -Allyl-2'-desoxyuridin. Anschließend erfolgt die Umwandlung in die α -Hydroxyethylgruppe (Demesmaeker et al., 1993; Demesmaeker et al., 1993). Sukeda *et al.* (Sukeda et al., 2000) nutzten unter anderem das 2'-Iod-2'-desoxyuridin, welches sich durch säurekatalysierte nukleophile Substitution aus dem O2,O2'-Anhydrouridin **41** mit NaI sehr leicht in guter Ausbeute synthetisieren lässt, zur Darstellung von 2'-C-Vinyl-2'-desoxy- und 2'-C-hydroxyethyl-2'-desoxyuridin durch radikalische 3'-2'-Wanderung an 3'-Vinyluridin. Dabei konnten sie über die Konzentration des Tributylzinnhydrids steuern, welche 2'-Hydroxyethylisomere des Uridins dargestellt werden sollten. 2-Hydroxyethyl entsteht über eine 6-endo-trig-Cyclisierung bei hoher Bu₃SnH-Konzentration, während sich das 1-Hydroxyethyl über eine 5-exo-trig-Cyclisierung bei geringer Bu₃SnH-Konzentration bildet.



Abbildungung 78: Postulierter Radikalmechanismus der Synthese von 2'-C-Vinyl-2'-desoxy- und 2'-C-hydroxyethyl-2'-desoxyuridin nach Sukeda *et al.* (Sukeda et al., 2000)

Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von 2'-C- α -Alk(in)yl-2'-desoxynukleoside stellten Yoshimura *et al.* (Yoshimura et al., 1991) vor, indem sie die 2'-Hydroxylgruppe zum 2'-Ketonukleosid oxidierten und an dieses verschiedene Lithiumalkine in sehr guten Ausbeuten addierten.

Das 2'-Iod-2'-desoxyuridin sollte sich auch für C-C-Kupplungen in der 2'-Position eignen. Ausgehend von synthetischen Arbeiten und theoretischen Betrachtungen meiner Diplomarbeit, wollte ich diese Möglichkeit einer Kreuzkupplung zur Darstellung solcher 2'-C- α -alk(in)ylnukleoside untersuchen. Da eine allgemein anwendbare metallkatalysierte Kreuzkupplung von nicht aktivierten Alkylhalogeniden mit Nukleophilen noch nicht entwickelt worden ist, wurden verschiedene bekannte Kreuzkupplungsreaktionen ausprobiert. Die Ursachen für diese Schwierigkeiten einer sp³-sp³-Verknüpfung werden deutlich, wenn man den Mechanismus solcher metallkatalysierten Kreuzkupplungen betrachtet (s. Abb. 79).

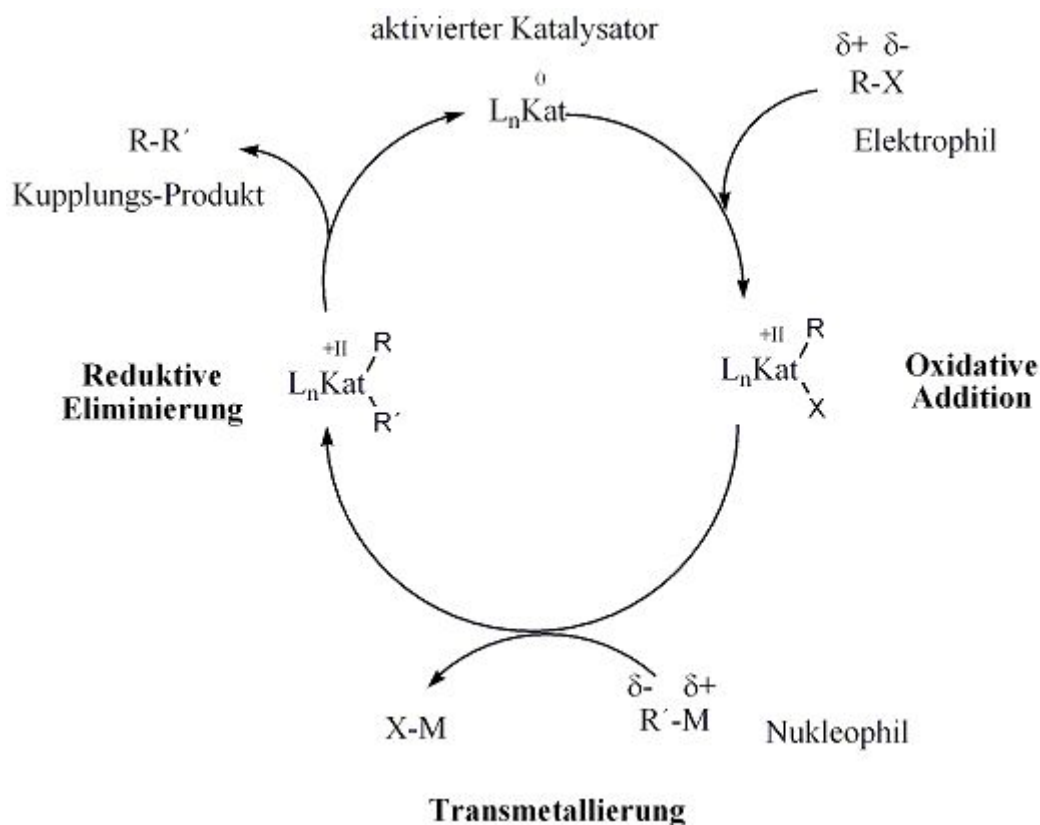


Abbildung 79: Allgemeiner Mechanismus der metallkatalysierten Kreuzkupplung

Der erste Schritt jeder Kreuzkupplungsreaktion beginnt mit der oxidativen Addition des Elektrophils (R-X) an einen koordinativ ungesättigten, niedervalenten Metallkomplex (z.B. Pd(0)). Im Unterschied zu Allyl-, Benzyl-, Alkenyl- und Arylbromiden und -iodiden reagieren Alkylhalogenide (sogar CH₃I) mit Pd(0)-Komplexen langsam (Ishiyama et al., 1991). Der zweite Schritt ist die Transmetallierung durch das Nukleophil. Wenn sich der Alkyl-Pd(II)-Komplex jedoch einmal gebildet hat, kann die Möglichkeit der Zersetzung durch eine schnelle β -Eliminierung von Wasserstoff bestehen, die mit der gewöhnlich langsameren Transmetallierung in Konkurrenz tritt. Die Bedingungen dafür, dass die β -Eliminierung stattfinden kann, sind unter anderem die Anwesenheit einer freien Koordinationsstelle und die Möglichkeit, dass die Metall-Kohlenstoff-Kohlenstoff-Wasserstoff-Atome koplanar angeordnet sind. Durch die Wahl von *m*-Trifluormethylstyrol, als Ligand für palladiumkatalysierte Reaktionen kann man die reduktive Eliminierung und Transmetallierung beschleunigen, sodass es zu keiner β -Eliminierung kommt. Auch die Zugabe eines Diens oder einer komplexierenden Base, bei nickelkatalysierten Kreuzkupplungen beschleunigt die Reaktion, durch Bildung eines Diallyl-Ni^{II}-Komplexes (Terao et al., 2002) oder durch die Komplexbildung des Nickels. Die β -Eliminierung lässt sich bei der Suzuki-reaktion durch Verwendung des Ligandes PCy₃, welcher ein guter Donor ist und der Base K₃PO₄ vermindern. Jedoch gilt dies nur für Alkylbromide (Netherton et al., 2001). Für Alkyltosylate, -iodide oder -chloride wurden andere Systeme vorgeschlagen (Fu et al., 2002; Kirchhoff et al., 2002; Netherton und Fu, 2002). Der Grund liegt vermutlich in den unterschiedlichen elektronischen und auch sterischen Eigenschaften der Halogenalkane und der Liganden, um einen koordinativ gesättigten Pd^{II}-Komplex, welcher für eine schnelle Transmetallierung und keine β -Eliminierung entscheidend ist, zu bilden. Der letzte Schritt der Kreuzkupplung ist die reduktive Eliminierung zum Produkt, wobei der Katalysator zurückgewonnen wird und einen neuen Zyklus eingehen kann. Jedoch verläuft diese reduktive Eliminierung bei *s*-Alkyl- π -Allyl-Pd^{II}- und Di- π -allyl-Pd^{II}-Komplexen langsam

(Goliaszewski und Schwartz, 1984). Dieser Vorgang lässt sich in vielen Fällen durch Zugabe von Verbindungen beschleunigen, die in der Lage sind, den niedervalenten Zustand des Metalls zu stabilisieren; dies sind typischerweise Liganden mit π -Akzeptor-Eigenschaften. Somit könnte die Auswahl eines Additivs mit geeigneten koordinativen Eigenschaften diesen Schritt erleichtern. Trotz dieser Probleme wurde in jüngster Zeit von einigen Alkyl-Alkyl-Kupplungsreaktionen berichtet.

2'-Iod-2'-desoxyuridin ist bisher in keiner Kreuzkupplungsreaktion beschrieben worden. Erste Versuche zur C-C-Knüpfung von **120** mittels metallkatalysierten Reaktionen schlugen jedoch fehl. Die eisenkatalysierte Kreuzkupplung mit einer Grignardverbindung nach einer Vorschrift von Nakamura *et al.* (Nakamura *et al.*, 2004) führte zu keinem isolierbaren Produkt. Auch die Verwendung von Nickel als Katalysator lieferte ein komplexeres Stoffgemisch (Terao *et al.*, 2002). Knochel konnte zeigen, dass Alkyljodide schneller mit Ni-Komplexen reagieren, als mit Palladiumkomplexen. Wahrscheinlich erfolgt dies über einen Radikalmechanismus. Die Kumadakreuzkupplung des 2'-Iod-2'-desoxyuridin mit dem Allylmagnesiumbromid wurde bei 0° in Analogie zu einer Vorschrift von Aebischer *et al.* (Aebischer *et al.*, 2006) durchgeführt, brachte es aber zu keinem Produkt. Eine Suzuki-Kupplung mit Phenylboronsäure (Charette und Giroux, 1996) lieferte nach HI-Abspaltung wahrscheinlich ein β -Eliminierungsprodukt des Uridins (Nachweis in der HPLC/MS).

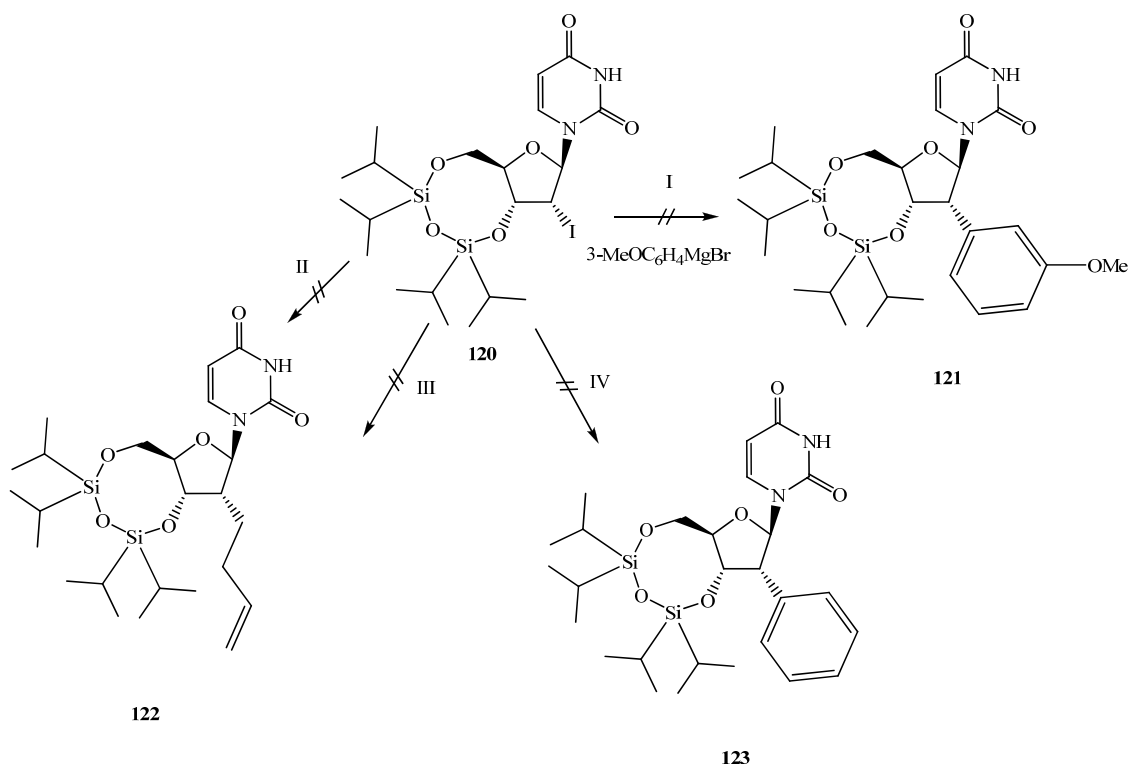


Abbildung 80: Kreuzkupplungen an 2'-Iod-2'-desoxyuridin: I) 5 mol% FeCl_3 , TMEDA, 3- $\text{MeOC}_6\text{H}_4\text{MgBr}$ in THF (0.25 M), THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 1 h; II) 5 mol% NiCl_2 , TMEDA, AllylMgBr in THF (0.25 M), THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 1 h; III) 20 mol% PdCl_2 , 20 mol% $(\text{dppf})_2$, AllylMgBr in THF (0.25 M), THF, $-78^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$, 1 h; IV) PhB(OH)_2 , PPh_3 , K_2CO_3 , TBAB, Pd(OAc)_2 , DMF, 48 h bei 70°C

2.7. Sonogashirareaktion an 5-Iod-2'-desoxyuridin

Untersuchungen zum Ankerungsverhalten in Lipidmembranen zeigten, dass die Position (2'-oder Nukleobase) des Lipidankers im Oligonukleotid keine Rolle spielen (s. Abs. 2.9.2). Aus diesem Grunde wurde für weitere Experimente auch einige Nukleoside über die bekannte Sonogashirareaktion an 5-Iod-2'-desoxyuridin mit einem lipophilen Anker versehen (Agrofoglio et al., 2003; Flasche, 2005; Flasche et al., 2004). Die Sonogashirakupplung ist eine palladiumkatalysierte Kreuzkupplung zwischen sp und sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatomen in Gegenwart von Cu(I). Im Grunde verläuft der Mechanismus ähnlich wie in Abbildung 79 dargestellt. Jedoch entsteht hier das Metallorganyl (Kupferalkin) *in situ* durch H-Metallaustausch. Als Besonderheit bei der Sonogashirareaktion von 5-Halouridinen ist die Bildung von Furanopyrimidinen zu erwähnen. Diese tritt verstärkt bei Verwendung größerer molarer Mengen an CuI oder zu hohen Temperaturen auf. Noch ist unklar, nach welchem Mechanismus diese Cyclisierung der Alkine verläuft. Yu *et al.* (Yu et al., 2000) vermuten einen baseninitiierten Mechanismus zur Bildung dieser Furanopyrimidone, wohingegen Robins *et al.* (Robins und Barr, 1983) eine metallkatalysierte Cyclisierung annehmen. Ein weiteres Problem solcher Sonogashirareaktionen ist die auftretende Glaserkupplung der Alkine, insbesondere, wenn die oxidative Addition der Arylhalogenide zu langsam ist. Dies kann vor allem bei Arylbromiden oder elektronenreichen Aryljodiden auftreten.

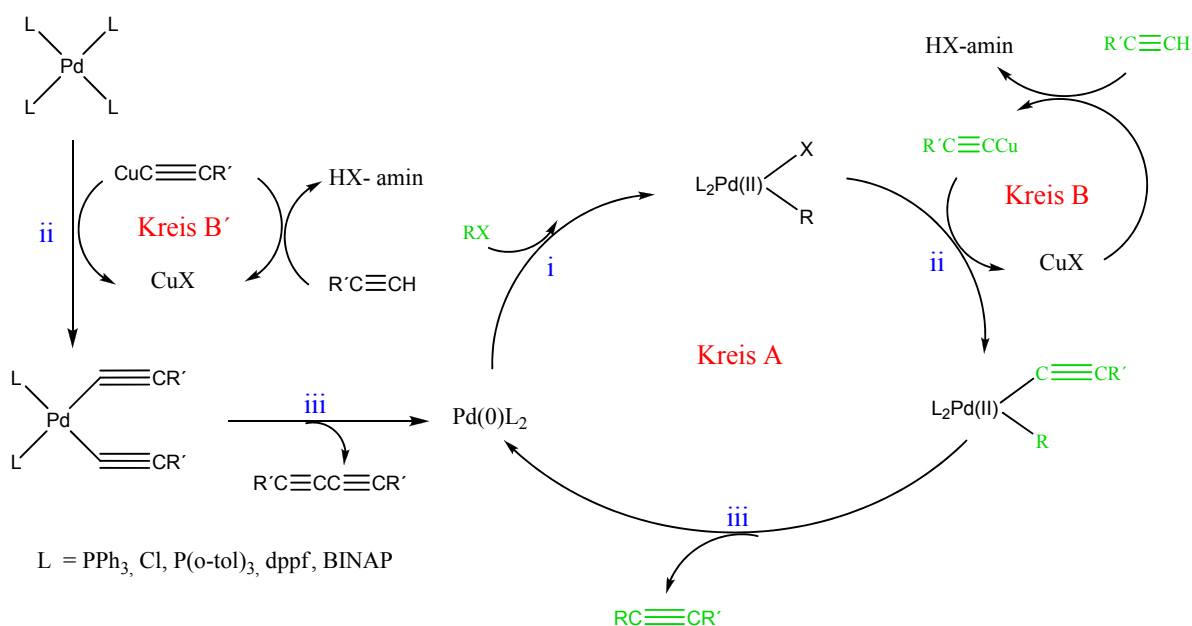


Abbildung 81: Reaktionsmechanismus der Sonogashirareaktion

Die Sonogashirareaktion verläuft in Anwesenheit von Aminen, wie Et_3N , $i-Pr_2EtN$ oder Piperidin und CuI als Cokatalysator (5-20%). Dieser wird beigegeben, um die Alkine unter Bildung von Kupferacetylenen zu aktivieren (s. Abb. 82 Kreis B & B'). Bei der Verwendung von Pd(II)-Katalysatoren kommt es in diesem Schritt (ii & iii) zu einer Reduktion des Katalysators zu Pd(0). Die $Pd(0)L_2$ -Spezies reagiert anschließend in einer oxidativen Addition (i) mit der sp^2 -Halogenverbindung zur Pd(II)-Verbindung. Das aus dem Kreis B generierte Kupferacetylen reagiert nun in einer Transmetallierung (ii) zu einem Palladiumkomplex. Nach der reduktiven Eliminierung (iii) erhält man zum einen das gekuppelte Alkin und zum anderen den Katalysator zurück.

Für die Sonogashirareaktion an Nukleosiden oder Nukleobasen wurden optimale Reaktionsbedingungen unter der Verwendung von $Pd(PPh_3)_4$ als Katalysator (0.1 eq.), CuI als Cokatalysator (0.2 eq.), Et_3N als Base (1.5–2.0

eq.) und DMF als Lösungsmittel gefunden (Flasche et al., 2004). Unter diesen Bedingungen wurden zwei neue Nukleolipide für spätere biophysikalische Untersuchungen dargestellt. Zum einen wurde das 5'-Iod-2'-desoxyuridin **124** mit Propargyltocopherol **126** in 53% Ausbeute zu dem Produkt **127** und zum anderen mit dem Cholesterolpropargylether **109** in 61% Ausbeute zu dem Produkt **129** umgesetzt. Beide Propargylether wurden aus den jeweiligen Alkoholen durch die Reaktion mit Propargylbromid in einem Gemisch aus THF und 50% KOH unter Phasentransferkatalyse bei 0°C gewonnen. Als Phasentransferkatalysator diente dabei TBAB.

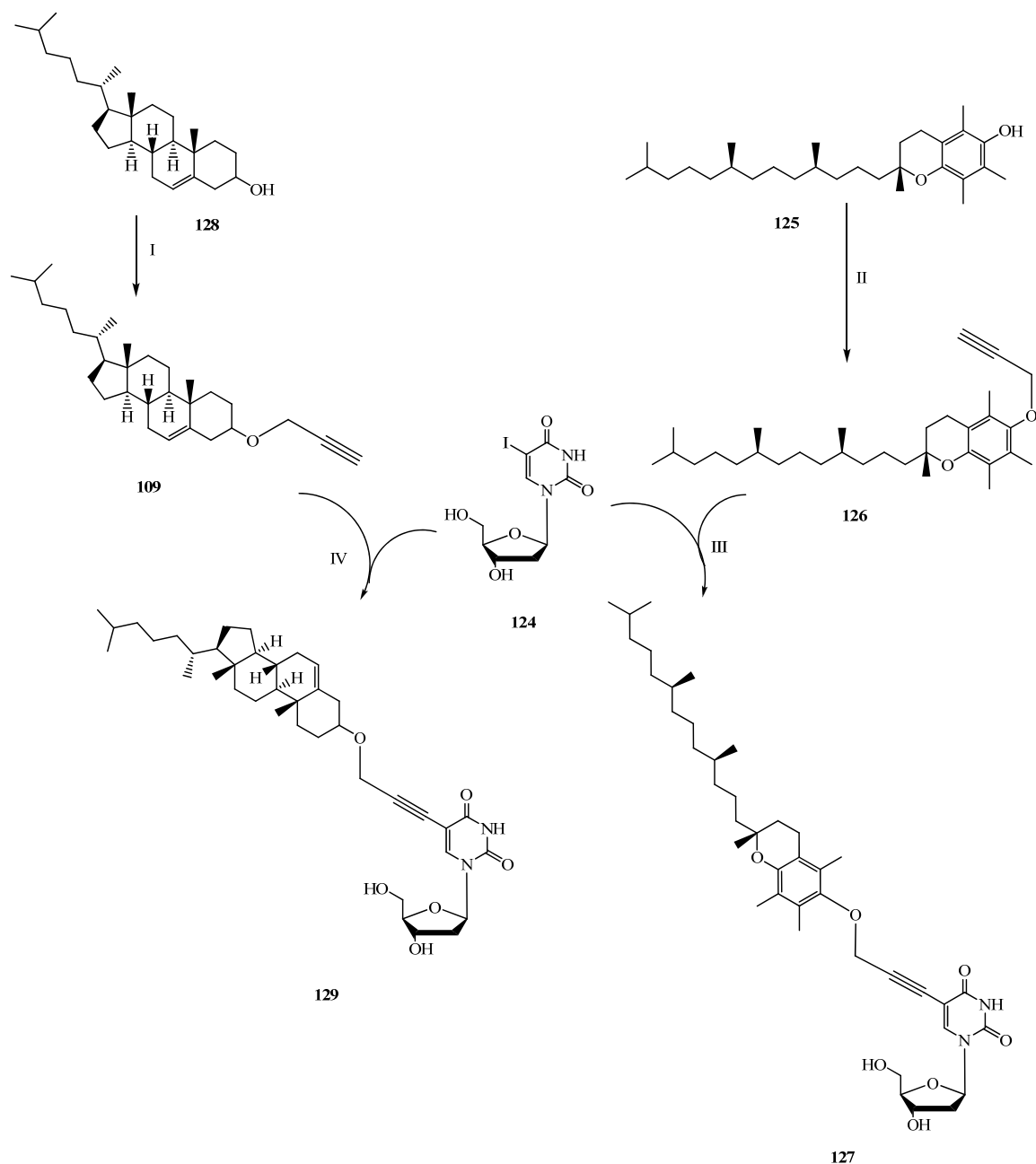


Abbildung 82: Synthese der 5-Alkynyl-2'-desoxyuridine: I) Propargylbromid (80 wt% in Toluol), TBAB, THF, 50% KOH, 0°C ->RT, 16 h, 20%; II) Propargylbromid (80 wt% in Toluol), TBAB, THF, 50% KOH, 0°C ->RT, 16 h, 85%; III) 5 mol% Pd(PPh₃)₄, 10 mol% CuI, 2.0 eq. Et₃N, DMF, 16 h bei RT, 53%; IV) 5 mol% Pd(PPh₃)₄, 10 mol% CuI, 2.0 eq. Et₃N, DMF, 16 h bei RT, 61%

2.8. Synthese der Oligonukleotide

Das Phosphoramiditverfahren, welches von Caruthers eingeführt wurde, ist heutzutage die Methode der Wahl für die Kupplung von monomeren Nukleotiden an der Festphase. Es werden hierbei monomere Nukleotidbausteine als 3'-Phosphoramidite sukzessiv an einer Festphase miteinander verknüpft. Die Phosphoramidite erlauben, aufgrund ihrer hohen Reaktivität, quantitative Umsätze in sehr kurzer Zeit. Der Aufbau der Sequenz erfolgt vom 3'- zum 5'-Ende, wobei bei Standardsynthesen ein „leadernucleosid“ über ein 3'-Succinat mit einer geeigneten Festphase (z.B. CPG) verknüpft ist. Die als 3'-Phosphoramidit eingebrachten Nukleoside tragen an der 5'-Hydroxylgruppe eine säurelabile Schutzgruppe und an den exocyclischen Aminofunktionen der Basen basenlabile Schutzgruppen. Der Aufbau eines Oligonukleotides nach dem Phosphoramiditverfahren basiert auf einem sich für jeden monomeren Baustein wiederholenden Prozess (s. Abb. 83). Dieser Synthesesyklus besteht aus vier grundsätzlichen Schritten:

1. *Coupling*: Das Phosphoramidit wird durch die Zugabe einer schwachen Säure, wie 4,5-Dicyanoimidazol (DCI) oder 1-H-Tetrazol, aktiviert und an die 5'-Hydroxygruppe des immobilisierten Nukleosides gekoppelt.
2. *Capping*: Die nicht umgesetzten OH-Gruppen werden mit Essigsäureanhydrid acetyliert und somit für weitere Umsetzungen blockiert. Hierdurch lassen sich unerwünschte Nebenprodukte reduzieren
3. *Oxidation*: Die Oxidation erfolgt mit wässriger Jodlösung und führt zum Phosphorsäuretriester.
4. *Detritylation*: Die säurelabile Tritylschutzgruppe (MMT, DMT) wird mit einer Dichloressigsäurelösung entfernt.

Nach vollendeter Sequenz werden das Oligonukleotid und die Schutzgruppen der Nukleobasen durch Behandlung mit wässrigem Ammoniak bei 55°C abgespalten

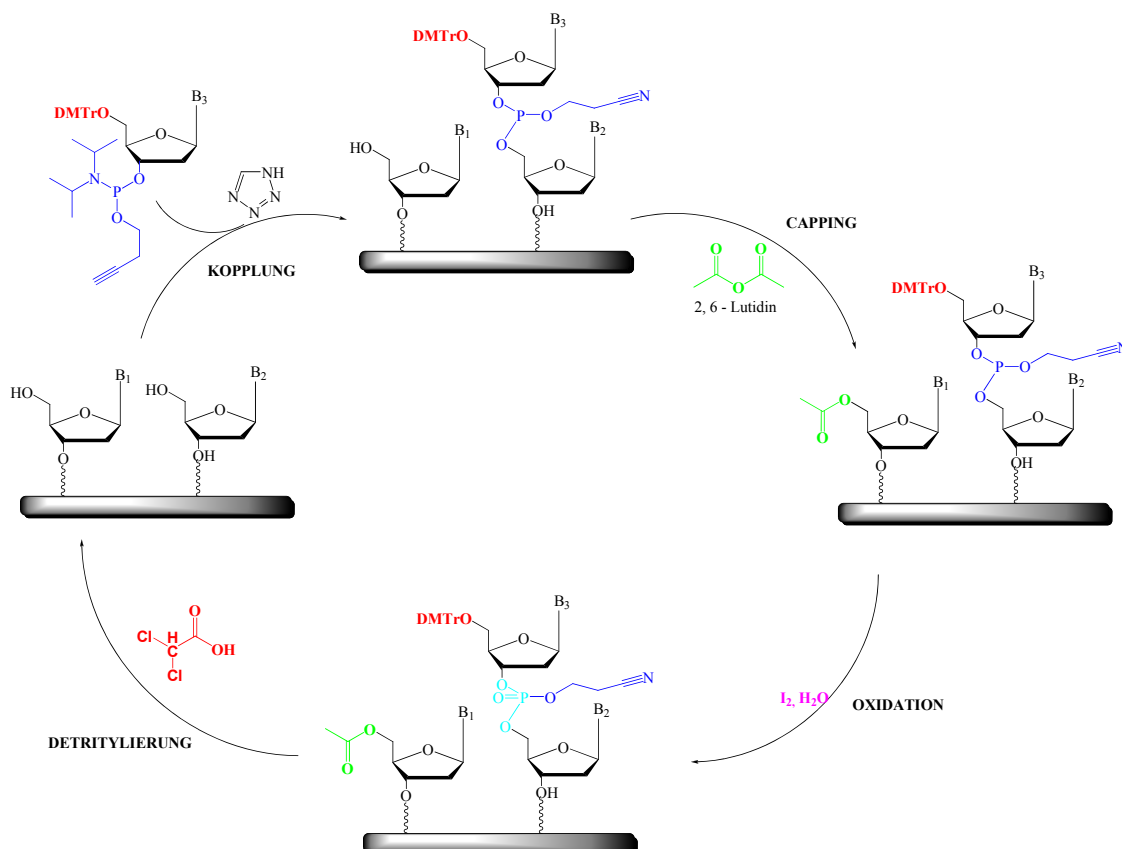


Abbildung 83: Syntheseyklus beim Phosphoramiditverfahren

Somit mussten auch die eingesetzten Nukleolipide in ein 5'-DMTr-geschützten-3'-phosphoramidit überführt werden.

Die Einführung der Dimethoxytritylschutzgruppe erfolgte nach dem Standardverfahren, durch Umsetzung des amphiphilen Nukleosides unter Argon in Pyridin und 1.1 eq. DMTrCl. Da in allen Fällen nach einer Stunde mittels DC kein vollständiger Umsatz festgestellt worden ist, wurden der Reaktionsmischung weitere 1.1 eq. DMTrCl hinzugefügt. Die Lösung wurde mit Methanol gequenchet und das Produkt säulenchromatographisch aufgereinigt.

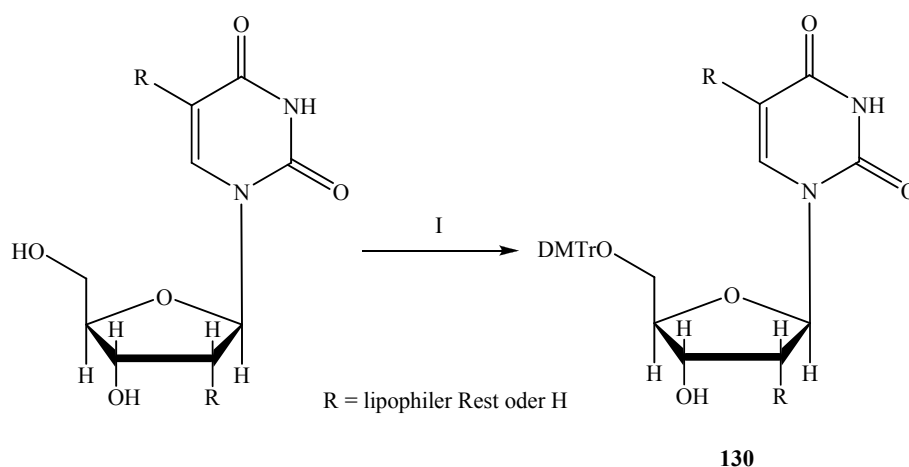
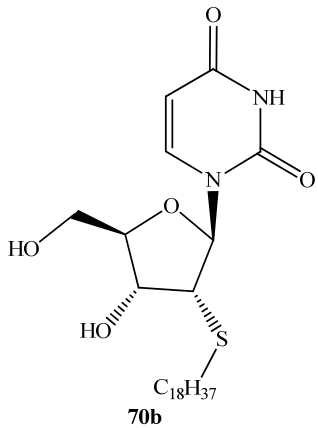
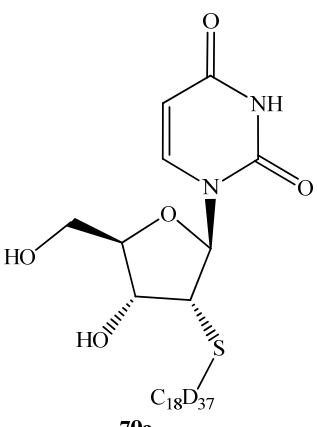
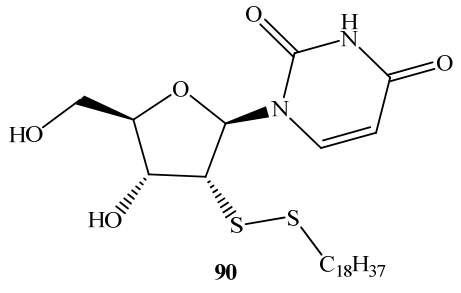
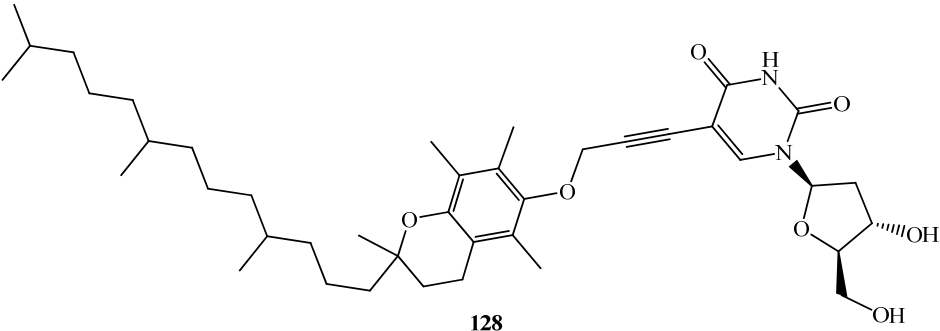
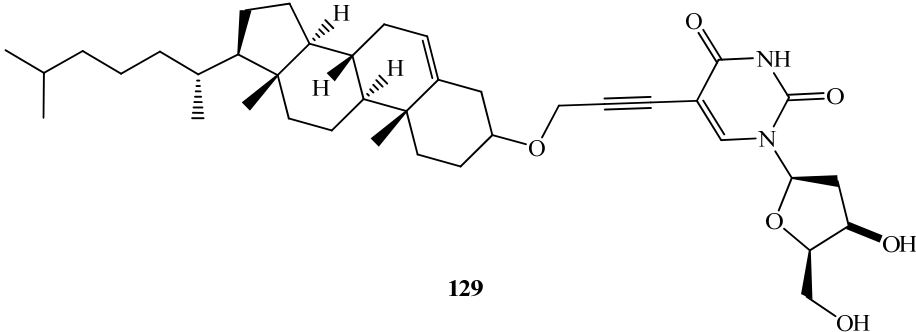
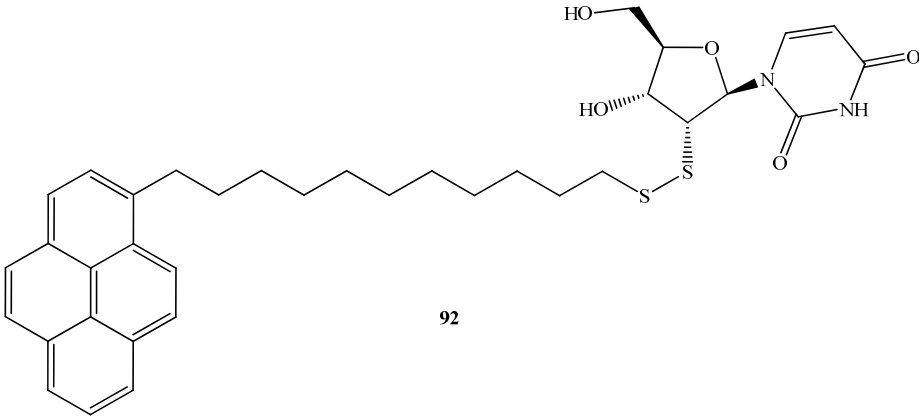


Abbildung 84: Allgemeine Synthese von **130**: I) 2.2 eq. DMTrCl, DMAP, Pyridin, 1 ½ h – 48 h bei RT

Tabelle 7: 5'-DMTr-geschützte lipophile Oligonukleoside **130**

Nr. 130.	Nukleoside	Ausbeute
a	 <p style="text-align: center;">70b</p>	90 %
b	 <p style="text-align: center;">70c</p>	90 %
c	 <p style="text-align: center;">90</p>	Quant.

d	 <p style="text-align: center;">128</p>	44 %
e	 <p style="text-align: center;">129</p>	44 %
f	 <p style="text-align: center;">92</p>	45 %

Die erhaltenden 5'-DMTr-geschützten Nukleolipide wurden anschließend in die entsprechenden Phosphoramidite überführt. Dabei wurde das 2-Cyanoethyl-*N,N,N',N'*-tetraisopropylphosphordiamidit (CyTIPP) als Phosphorylierungsreagens im leichten Überschuss eingesetzt (Bannwarth, 1988; Bannwarth und Trzeciak, 1987). Als Base kam zum einen eine 0.45 M Tetrazollösung (in Acetonitril) zum Einsatz. Da diese trotz sorgfältigem Umgang sehr schnell Wasser zieht, wurde später zum 4,5-Dicyanoimidazol als Base übergegangen. Nach 2-3 h wurde das Produkt nach säulenchromatographischer Aufarbeitung in den meisten Fällen in guten Ausbeuten erhalten.

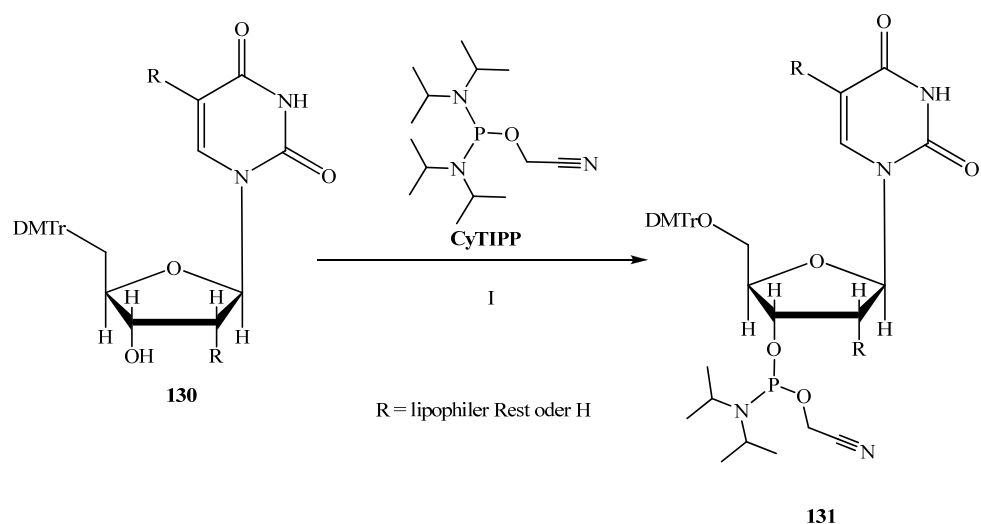
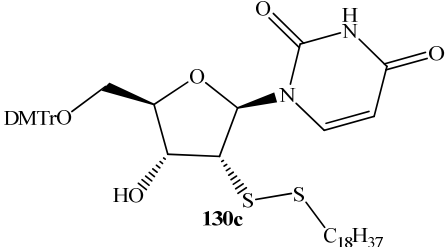
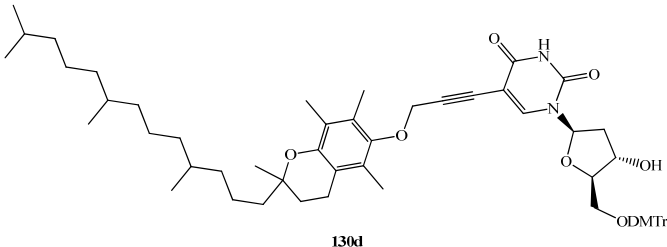
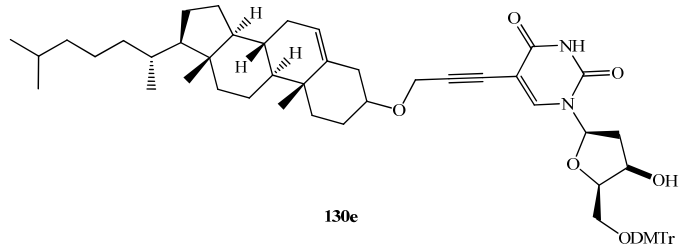
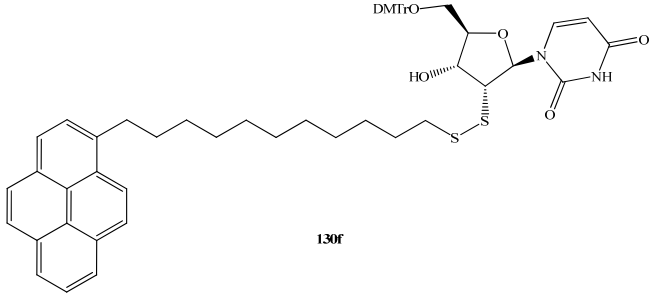
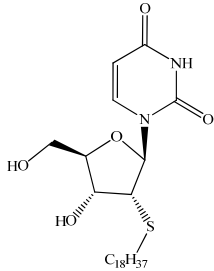
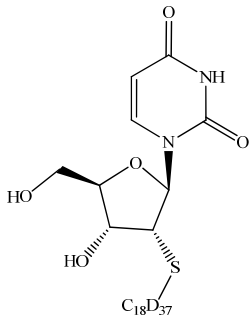
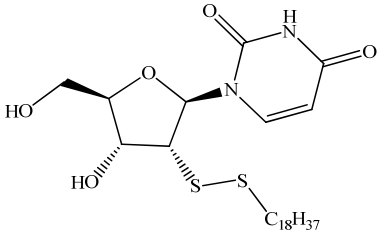
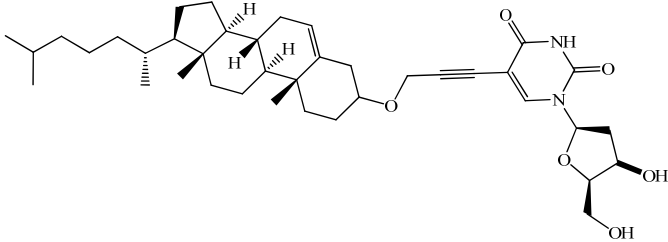


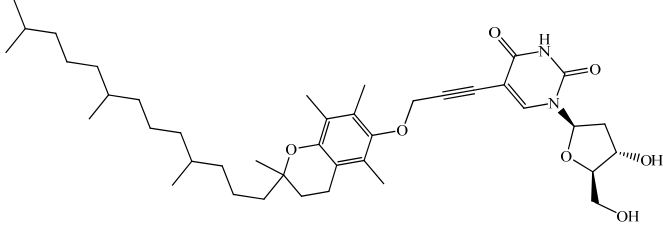
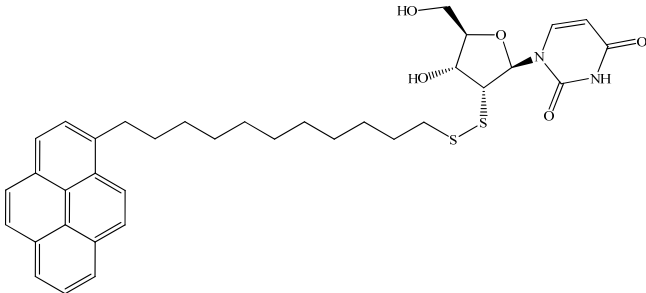
Abbildung 85: Allgemeine Synthese von **131**: I) 1.1 eq. CyTIPP, 1.1 eq. 0.45 M Tetrazollösung oder 1.1. eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH₂Cl₂, 2 h – 3 h bei RT

Nr. 131	Nukleoside	Reaktionsbedingungen	Ausbeute
a	<p style="text-align: center;">130a</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 0.45 M Tetrazollösung (in Acetonitril), CH ₂ Cl ₂ , 2 h bei RT	70 %
b	<p style="text-align: center;">130b</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH ₂ Cl ₂ , 2 h bei RT	78 %

c	 <p>130c</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH ₂ Cl ₂ , 3 h bei RT	30 %
d	 <p>130d</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH ₂ Cl ₂ , 3 h bei RT	78 %
e	 <p>130e</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH ₂ Cl ₂ , 3 h bei RT	51 %
f	 <p>130f</p>	1.1 eq. CyTIPP, 1.1.eq. 4,5-Dicyanoimidazol, CH ₂ Cl ₂ , 3 h bei RT	25 %

Es wurden eine Reihe von neuen lipophil modifizierten Oligonukleotide erfolgreich bei der Firma **BioTeZ** Berlin – Buch GmbH im 1000 nmol Maßstab synthetisiert.

Monomer L	Sequenz, Nummer in der Datenbank
 <p>Oligo1</p>	<p>a) 5'-LTT-TTT-LTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer) D18-1</p> <p>b) 5'-LTT-TTT-TLT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer), D 33</p>
 <p>Oligo2</p>	<p>a) 5'-LTT-TTT-LTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer), D18-2</p> <p>b) 5'-LTT-TTT-TLT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer), D34</p>
 <p>Oligo3</p>	<p>a) 5'-LTT-TTT-LTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer), failed</p>
 <p>Oligo4</p>	<p>a) 5'-TLT-TTC-TCA-CCT-TCC-ATC-TAT-TCC-GTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-3' (42mer), D64</p> <p>b) 3'-TLT-TTG-AGT-GGA-AGG-TAG-ATA-AGG-CA-5' (26mer), D65</p>

 <p>Oligo5</p>	<p>a) 5'-LTT-TTT-LTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer), D51</p> <p>b) 5'- TLC-CCC-CLT-TTT-TGT-CGC-TTC-AGC -3' (24mer), D53</p> <p>c) 5'-TLC-CCC-CLT-TGC-TGA-AGC-GAC-AAA-3' (24mer), D54</p> <p>d) 5'- TTC-CTG-GAA-GCA-GGT-TLC-CCC-CLT-3' (24mer), D55</p> <p>e) 5'-TLT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-LT-3' (32mer), D61</p>
 <p>Oligo6</p>	<p>a) 5'-TLT-TTC-TCA-CCT-TCC-ATC-TAT-TCC-GTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-3' (42mer), failed</p>

Es zeigte sich deutlich, dass Monomere, welche eine Disulfidgruppe in 2'-Position enthalten, nicht für die Oligonukleotidsynthese geeignet sind. Warum dies so ist, konnte nicht eindeutig geklärt werden, da Disulfide auch kommerziell in der Oligonukleotidsynthese eingesetzt werden, um Thiolanker an der 3' oder 5'-Position zu schützen. Eine mögliche Erklärung wäre eine Spaltung des Disulfides durch einen nukleophilen Angriff des Ammonium-Iones (Abspaltung des Oligonukleotides vom Harz mit wässrigem Ammoniak bei 55°C). Das daraus generierte Sulfid kann nun intramolekular das Phosphat unter Strangbruch angreifen, wie es von Thiophosphaten bekannt ist. Auch ein Angriff des Phosphates auf das Disulfid unter Spaltung jenes wäre denkbar.

Mehrere ältere Arbeiten (Dantzman und Kiessling, 1996; Hamm und Piccirilli, 1997; Johnson et al., 1995; Patel et al., 1980; Reese et al., 1994) untersuchten die Labilität der glykosidischen Bindung von 2'-Thio-2-desoxynukleosiden und stellten unter anderem fest, dass 2'-Thiouridylyl-(3'→5')-uridin unter sauren, neutralen und basischen Bedingungen bei Anwesenheit von Sauerstoff dimerisieren kann, was eigentlich nicht verwunderlich ist. Beachtenswert ist nur, dass sie anschließend unter basischen Bedingungen (pH 9 bei Raumtemperatur) leicht fragmentieren, zum Uracil oder Uridin 2'-thiophosphat (s. Abb. 86). In Tabelle 10 sind die HPLC-Flächenprozentage der jeweiligen detektierten Substanzen zu erkennen. Dabei wurde das Nukleotid 20 h bei dem jeweiligen pH-Wert gerührt und anschließend untersucht. Die Experimente wurden in Abwesenheit von 2-Mercaptoethanol und auch in Anwesenheit jenem (Werte in den Klammern) durchgeführt. Diese basischen Bedingungen sind beim Abspalten des Oligonukleotides vom Harz gegeben, was vielleicht erklärt, warum trotz erfolgreicher Kupplung, kein Produkt isoliert werden konnte.

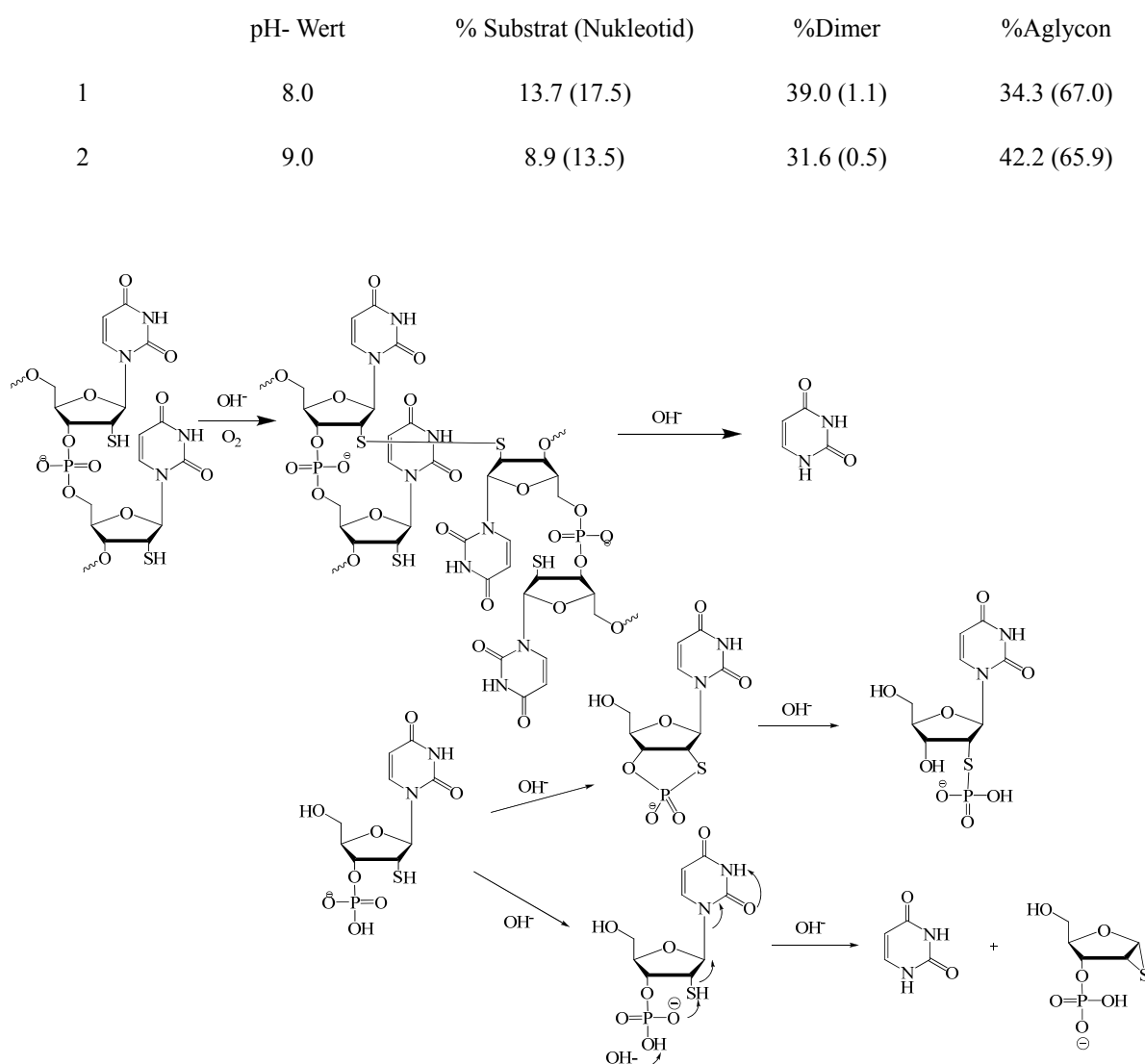


Abbildung 86: Mögliche Mechanismen zur beobachteten Spaltung von 2'-Thio-2-desoxynukleotiden im Basischen (Johnson et al., 1995)

2.9. NMR-Spektroskopische Untersuchungen

2.9.1. Untersuchungen an Nukleosiden

Die Festkörper-NMR-Spektroskopie erwies sich in den letzten Jahren als sehr nützliches Werkzeug, um das Bindungsverhalten und die Struktur von Biomolekülen, wie z.B. Proteinen oder Nukleinsäuren zu untersuchen (Baglioni et al., 1997; Bonaccio et al., 1997; Cruciani et al., 2004; Reuther et al., 2006; Reuther et al., 2006; Scheidt et al., 2004; Zandomeneghi et al., 2001).

Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen und auch die DSC-Messungen der dargestellten Nukleolipide und Oligonukleotide, welche in die Membran inkorporiert sind, wurden von Dr. Andreas Bunge und PD Dr. habil. Daniel Huster von der Universität Leipzig (vorher Martin Luther Universität Halle-Wittenberg) gemessen (Bunge, 2008). Die Ergebnisse werden im Folgenden gezeigt.

Die Phospholipidmembran besitzt eine bewegliche Mosaikstruktur, aufgebaut aus Lipidmolekülen, und kann eine große Anzahl verschiedener Moleküle akkumulieren oder binden. Dies kann jedoch zu einer geringfügigen Störung der Membran in der Kopfgruppe führen. Diese strukturellen und dynamisch charakteristischen Veränderungen in der Phospholipidmembran wurden mittels der ^{31}P - und ^2H -NMR-Spektroskopie untersucht (Seelig, 1978; Seelig und Seelig, 1980; Seelig und Waespesarcevic, 1978).

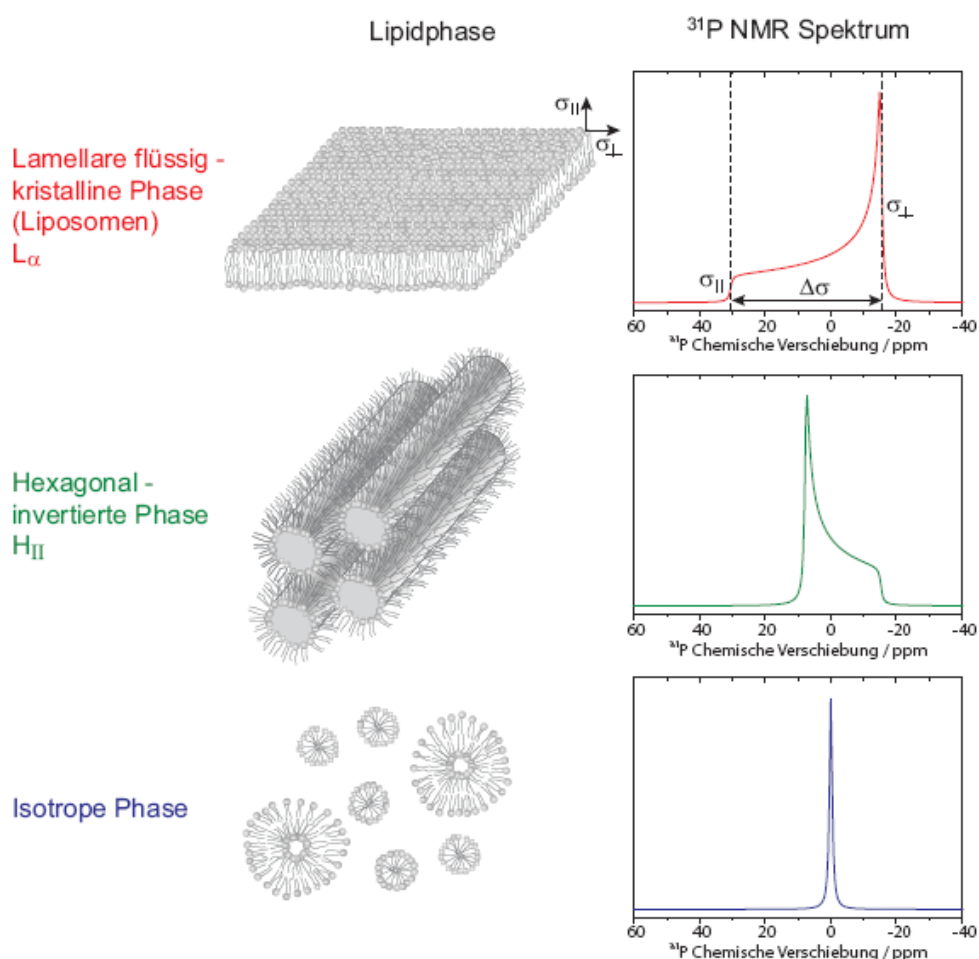


Abbildung 87: ^{31}P -NMR Spektren der verschiedenen Phospholipidphasen

Als Modellmembrane wurden POPC-MLVs verwendet (s. Abb. 88), welche mit jeweils 25% des jeweiligen Nukleolipides inkubiert worden sind. Die Messungen erfolgten bei 30°C und einem Wassergehalt zwischen den Membranen von 40 wt%.

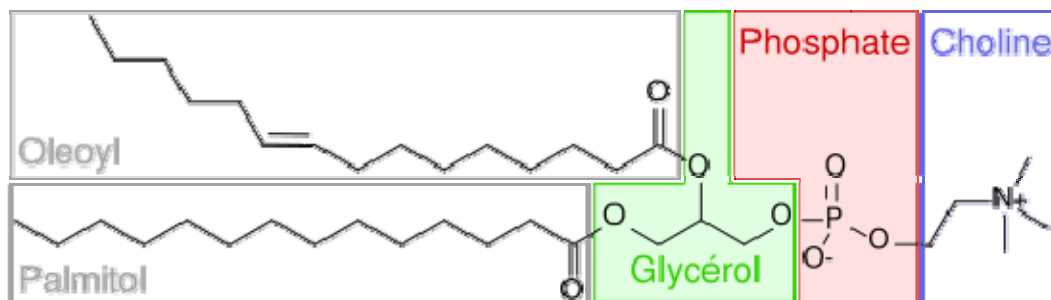


Abbildung 88: Struktur von POPC aus Wikipedia.org

Es zeigte sich anhand der Aufnahme von axialsymmetrischen ^{31}P -Pulverspektren, dass es durch die Inkorporierung der Nukleolipide in der Membran zu keiner Störung der Kopfgruppe kommt und die POPC-Membran im lamellaren flüssig-kristallinen Zustand verbleibt. Eine Quantifizierung der Ergebnisse ließ sich aus der Breite des Peaks im ^{31}P -Spektrum und der daraus erhaltenden Anisotropie der chemischen Verschiebung bestimmen (s. Tab. 11).

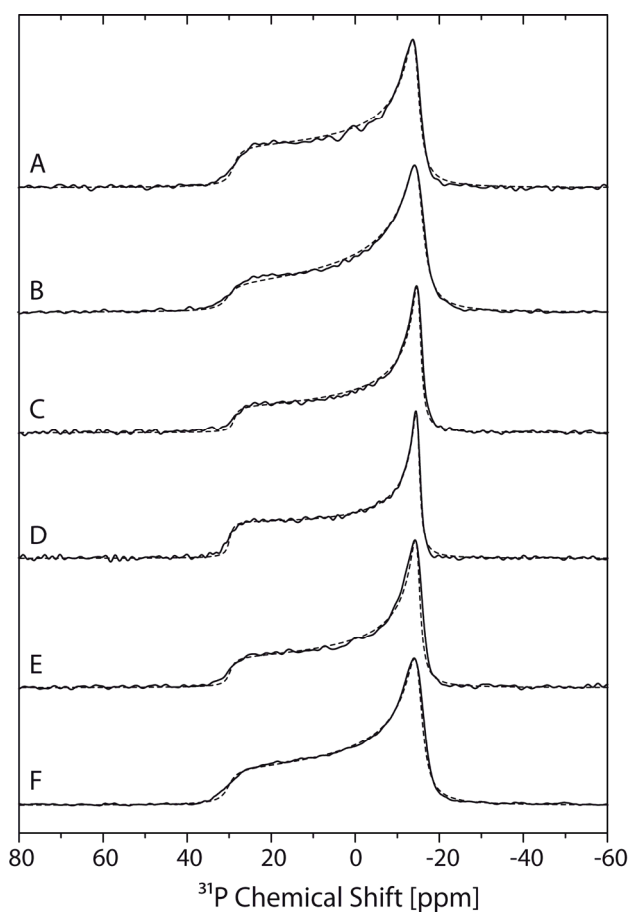


Abbildung 89: ^{31}P -NMR-Spektren von POPC Membranen in Anwesenheit von 25 mol% **4/5** (A), **14** (B), **70b** (D), **22** (E) und reinen POPC (F) als Referenz

Um diese Inkorporierung der lipophilen Nukleoside hinsichtlich der Packungseigenschaften der Membran zu untersuchen, wurden aus den erhaltenen ^2H -NMR-Spektren Kettenordnungsparameterprofile als Funktion der Kohlenstoffposition des POPC- d_{31} extrahiert (s. Abb. 90, 91). Die Nummerierung der Palmitoylkette des POPC- d_{31} beginnt am Carbonyl-C-atom (C1). Aus diesen geglätteten ^2H -NMR-Ordnungsparameterprofile und den ^{31}P -NMR-Spektren konnten die in Tabelle 11 aufgeführten Daten mittels mathematischer Berechnungen ermittelt werden.

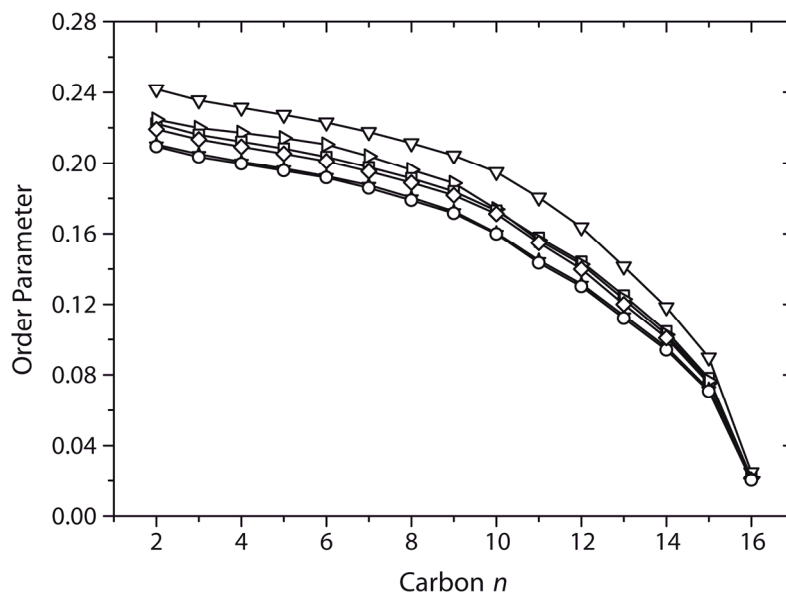


Abbildung 90: Geglättete ^2H -NMR-Ordnungsparameterprofile der Proben POPC- d_{31} P (○), 4/5/POPC- d_{31} (◇), 14/POPC- d_{31} (□), 22/POPC- d_{31} (*), 70b/POPC- d_{31} (<), 70c/POPC (>)

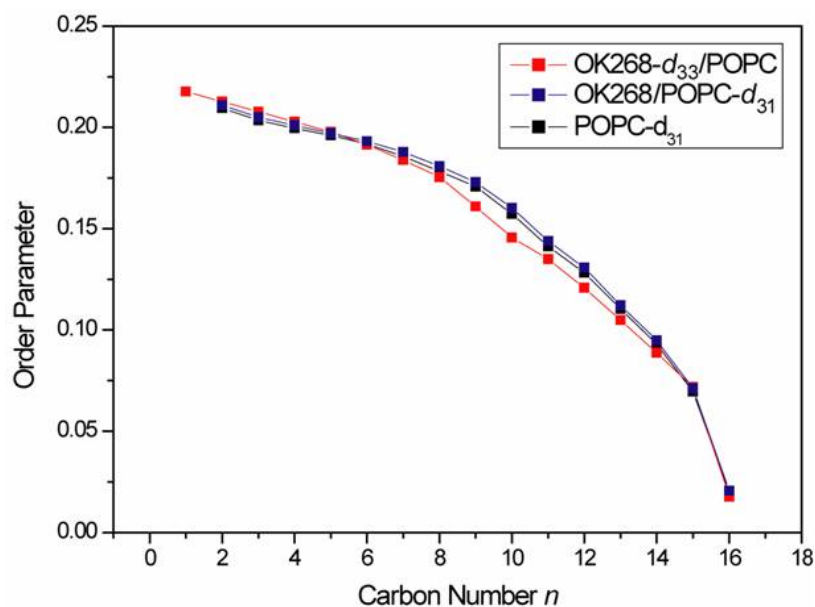


Abbildung 91: Geglättete ^2H -NMR-Ordnungsparameterprofile der Proben POPC- d_{31} , OK268(70b)/POPC- d_{31} , OK-268- d_{33} (70c)/POPC- d_{31}

Membran- zusammen- setzung	$\Delta\sigma/\text{ppm}$ (Anisotropie der chemischen Verschiebung)	S_{AV} (durchschnitt. Ordnungs- parameter)	$\langle L_c \rangle / \text{\AA}$ (durchschnitt. Kettenlänge des POPC)
POPC	45.2	0.153	11.46
POPC/ 4/5	43.4	0.162	11.74
POPC/ 14	45.5	0.165	11.84
POPC/ 22	44.1	0.167	11.88
POPC/ 70b	44.7	0.154	11.51
POPC/ 70c	k.A.	0.152	11.36
POPC/ 128	45.6	0.169	12.04
POPC/ 129	46.6	0.179	12.31

Anhand der Tabelle 11 konnten nur geringfügige Veränderungen in den chemischen Verschiebungen, den durchschnittlichen Ordnungsparametern (gibt in einem Phasenübergang die Symmetriebrechung an) und der durchschnittlichen Kettenlänge (gibt den gestörten Teil der POPC-Kette an) des POPCs gegenüber einer reinen POPC-Membran festgestellt werden. Dies spricht wiederum für eine gute Inkorporierung der Nukleolipide in die Membran. Jedoch sei hier noch auf einige Besonderheiten hinzuweisen. Zum einen zeigt sich eine Erhöhung der Ordnungsparameter für die Acylnukleoside **4/5**, **14** und **22** gegenüber den Alkylukleosiden **70b** und **70c**, was wahrscheinlich auf das Fehlen der Carboxylgruppe zurückzuführen ist und es somit, aufgrund der Ähnlichkeit zum POPC, zu einer besseren Einlagerung des Nukleolipides zwischen den Acylketten des POPCs kommt. Dies zeigt sich auch in den daraus resultierenden höheren Werten der durchschnittlichen Kettenlänge. Ebenso gilt dies für die Nukleolipide **128** und **129**, deren durchschnittliche Kettenlänge nochmals höher ist, als bei den Nukleolipiden mit dem lipophilen Rest am Zucker, was auf eine bessere Membranbindung und eine höhere Ordnung des POPC-Membranes hinweist.

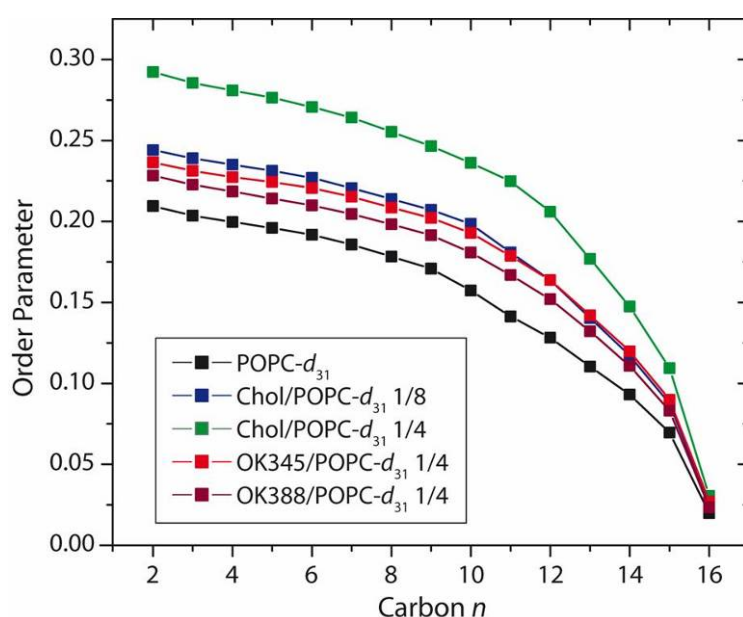


Abbildung 92: Geglättete ^2H -NMR-Ordnungsparameterprofile der Proben POPC- d_{31} , OK345(**70h**)/ POPC- d_{31} , OK 388(**129**)/ POPC- d_{31} im Vergleich zum Cholesterol unter den angegebenen molaren Verhältnissen

Ebenso wurden aus den erhaltenden ^2H -NMR-Spektren der cholesterolfunktionalisierten Oligonukleotide Kettenordnungsparameterprofile als Funktion der Kohlenstoffposition des POPC- d_{31} extrahiert (s. Abb. 92). Aus deren Abbildung wird deutlich, dass die cholesterolgebundenen Nukleoside **129** (OK 388) und **70h** (OK 345), die Membran viel weniger ordnen, als Cholesterol. Das heißt, um eine höhere Ordnung in den Lipidmembrandomänen zu erzielen, braucht man viel mehr der Cholesterolnukleolipide, als von Cholesterol selbst (Binder et al., 2003; Vanmeer und Simons, 1983).

Durch die Verwendung eines deuterierten Alkylankers am Nukleosid ließen sich weiterhin Aussagen über die dynamischen (elastischen) Eigenschaften der Membran in Gegenwart des lipophilen Nukleosides treffen. Dazu wurden ^2H -NMR-Spin-Gitter-Relaxationsmessungen durchgeführt. Bei der Aufnahme von ^2H -NMR-Spektren werden üblicherweise Phospholipide eingesetzt, bei denen die ^1H -Atome nicht nur an einer Position durch Deuterium ersetzt sind, sondern eine oder beide Kohlenwasserstoffketten des Lipids vollständig deuteriert ist. Daher

kommt es im ^1H -Spektrum, aufgrund der Dynamik der Methylengruppen, zur Überlagerung der einzelnen Pake-Dubletts. Durch die Anordnung der Phospholipide in der Membran sind die Methylengruppen am Kettenanfang nahe des Glycerolrückgrats relativ rigide, verglichen mit den CH_2 -Gruppen am Kettenende, die eine hohe Beweglichkeit und damit geringe Ordnungsparameter aufweisen. Da die Ordnungsparameter insbesondere im oberen Kettenbereich sehr ähnlich sind, können die einzelnen Dubletts nicht mehr aufgelöst werden. Mittels eines mathematischen Algorithmus (Brown et al., 1994; Trouard et al., 1994), erhält man aus den ermittelten ^2H -NMR-Spin-Gitter-Relaxationsmessungen einen sogenannten *Square-Law-Plot* (s. Abb. 94), dessen Anstieg im direkten Zusammenhang zu den elastischen Eigenschaften der Membran steht (Brown et al., 2000).

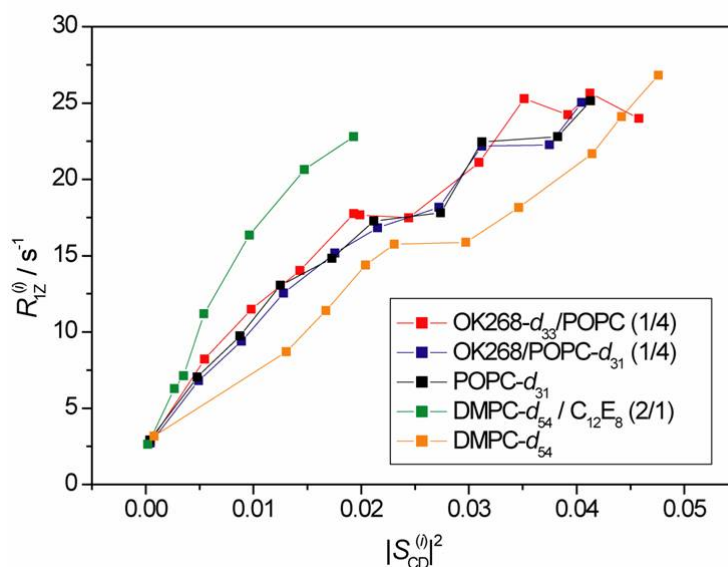


Abbildung 93: Square-Law Plots der Proben OK268(**70b**)/ POPC- d_{31} , OK268- d_{33} (**70c**)/ POPC im Vergleich zu DMPC- d_{54} und POPC- d_{31}

Aufgrund des sehr ähnlichen Kurvenverlaufes der Mischungen im Vergleich zu reinen Phospholipiden in Abbildung 93, kann man darauf zurückschließen, dass die elastischen Eigenschaften der Membran erhalten bleiben und es zu einer guten Durchmischung der Nukleolipide und der Phospholipide in der Membran kommt. Dies gilt wieder als ein Beweis für eine gute Inkorporierung der verwendeten Nukleolipide.

Nachdem anhand unterschiedlicher Methoden gezeigt wurde, dass die verwendeten Nukleolipide in Phospholipidmembranen verankern und auch die Membran nur geringfügig stören, sollte nun untersucht werden, ob die Nukleobasen für eine Watson–Crick–Basenpaarung mit in Lösung befindlichen komplementären Nukleosiden oder Oligonukleotiden genutzt werden können. Denn wie in Kapitel 1.3 beschrieben, zeigten bisherige Versuche, dass Nukleolipide, welche den lipophilen Rest an der Nukleobase tragen, zu tief in die Membran ragen und somit nicht mehr für eine Basenpaarung zu Verfügung stehen. Um dies zu untersuchen, wurde die bevorzugte Lokalisation der lipophilen Nukleoside innerhalb der Membranmatrix mittels ^1H -NOESY-NMR-Spektroskopie unter MAS bestimmt (Huster et al., 1999). Dabei ist zu beachten, dass die ^1H -Spektren durch die Signale des POPC dominiert werden und somit die Methylen- und die Methylgruppen der Lipidanker zwischen ~ 0.9 bis 2.5 ppm in einem großen Peak untergehen. Auch die meisten Protonen des Zuckers sind von dem Glycerolgerüst des Phospholipid überlagert. Aus diesem Grunde können nur wenige charakteristische Signale der Nukleolipide aufgelöst und eindeutig zugeordnet werden. Dies wären das H1', das H5 und das H6-Proton (s. Abb. 94). Glück-

lichweise sind dies genau die Protonen, welche entscheidend sind, um aufklären zu können, wie weit das Nukleolipid in der Membran verankert ist. Bei den entsprechenden NOESY-Messungen macht man sich den Kern-Overhauser-Effekt nutzbar, der beschreibt, dass es zu einem Austausch der Spinnmagnetisierung kommt, wenn die Abstände beider Kerne kleiner als 5 Å sind. Dies wird im Spektrum als Kreuzpeaks sichtbar. Da die Nukleolipide nicht starr in der Membran verankert sind, sondern sich darin frei bewegen, konnten keine definierten Abstände gemessen werden. Es konnten lediglich Aussagen darüber getroffen werden, wie wahrscheinlich ein Proton mit einem anderen in Wechselwirkung tritt und ob es zwischen beiden zu einem Austausch ihrer Spinnmagnetisierung kommt, was zu einer höheren Kreuzrelaxationsrate führt. Aus diesem Grund wurden für jede Probe mehrere NOESY-Spektren aufgenommen und gemittelt. Aus den Messungen wurden anschließend folgende relativen Kreuzrelaxationsraten bestimmt und grafisch dargestellt (s. Abb. 95).

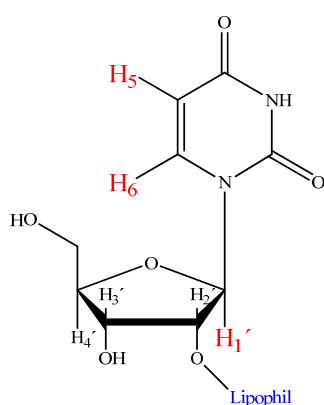


Abbildung 94: Darstellung der Protonen, welche im ^1H -NOESY-NMR-Spektrum zugeordnet werden können

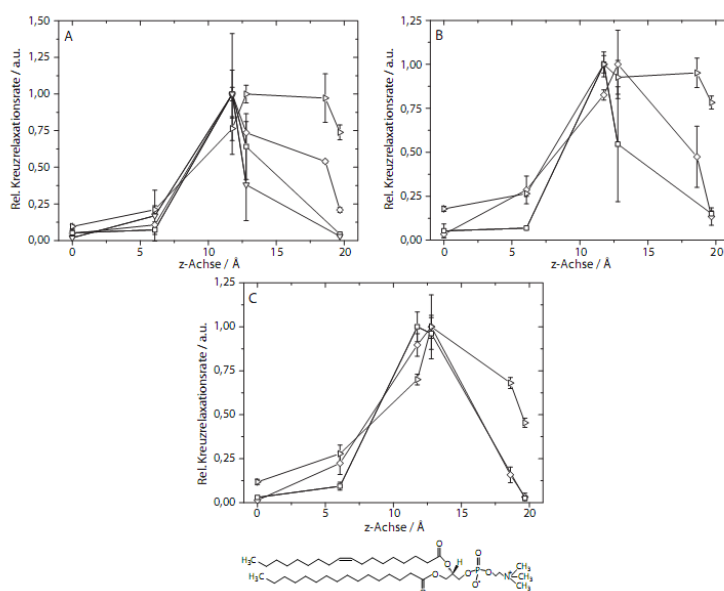


Abbildung 95: Normierte intermolekulare ^1H -NOESY Kreuzrelaxationsraten zwischen den lipophilen Nukleosiden **4/5** (\diamond), **14** (\square) bzw. **22** (\circ) und den POPC-Molekülen innerhalb der Membran als Funktion der Koordinaten der einzelnen Lipidsegmente entlang der Membrannormalen. Oben: Mittlere Lokalisation der Protonen **H6** (A), **H5** (B) des Uracils und des **H1'** Protons der Ribose (C). Die Messungen wurden bei einem molaren Verhältnis POPC/lipophiles Nukleosid 4/1, einer Temperatur von 303 K und einer Rotationsfrequenz von $\omega r/2\pi = 6009$ Hz durchgeführt.

Man erkennt aus der Abbildung 95, dass nur bei **4/5** und **22** hohe Kreuzrelaxationsraten zwischen H1' und der Kopfgruppe gemessen werden konnten. Dagegen weist **14** hohe Kreuzrelaxationsraten mit den Alkylketten des POPC auf, was für eine tiefe Verankerung in der Membran spricht und es somit nicht mehr zu einer Basenpaarung fähig ist. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Nukleolipide mit mehr als einen Alkylanker nur dann für die Watson–Crick–Basenpaarung zur Verfügung stehen können, wenn sie einen Spacer zwischen dem Nukleosid und dem lipophilen Rest vorweisen.

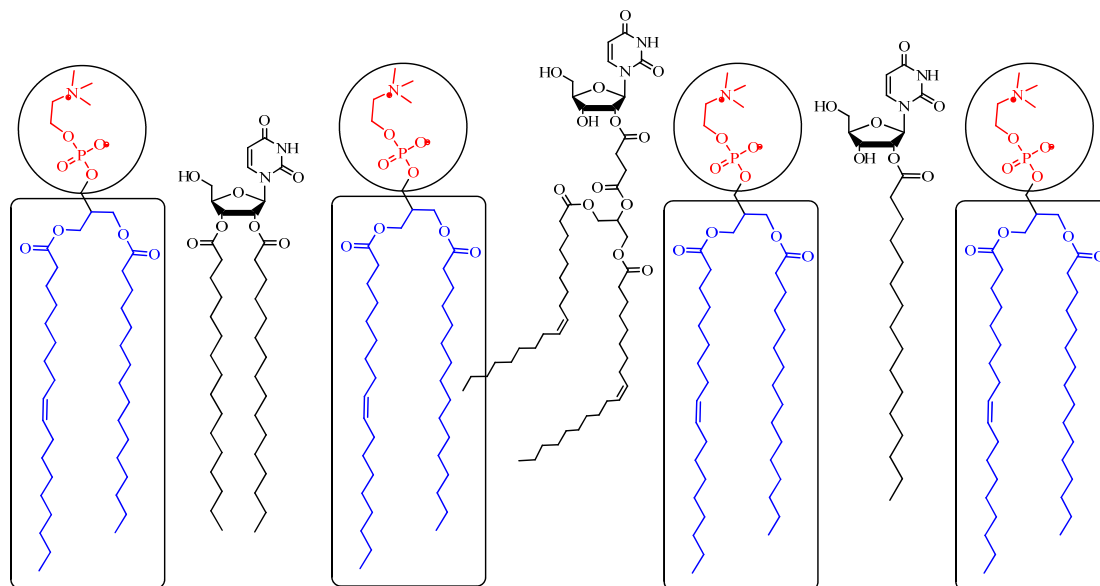


Abbildung 96: Schematische Tiefendarstellung der Nukleolipide **14**, **22** und **4/5** in der POPC- Membran

2.9.2. Untersuchungen an Oligonukleotiden

An Nukleosiden konnte belegt werden (s. Abs. 2.9.1), dass es entscheidend ist, dass sich der lipophile Rest am Zucker befindet, damit membranverankerte Nukleolipide für eine Basenpaarung zur Verfügung stehen können. Doch wie ist es mit Oligonukleotiden? Ist es dort auch entscheidend, an welcher Stelle der lipophile Anker hängt? Dazu einige grundlegende Aspekte. Zum einen haben wir von der Natur gelernt, dass viele membrangebundene Proteine zwei lipophile Anker für eine stabile Verankerung tragen. Weiterhin konnte an einigen Beispielen im Kapitel 1 gezeigt werden, dass Oligonukleotide für eine stabile Membranverankerung auch zwei lipophile Ketten tragen sollten. Diese Beobachtung wurde bei der Wahl der Oligonukleotidsequenzen in den meisten Fällen Rechnung getragen, durch den Einbau zwei lipophiler Nukleotide. Des Weiteren zeigten bisherige Arbeiten aus unserem Arbeitskreis (Bunge et al., 2007; Kurz et al., 2006), dass Nukleotide, welche den Anker an der Nukleobase tragen, bei der Doppelstrangbildung nicht für eine Watson-Crick-Basenpaarung zur Verfügung stehen. Wahrscheinlich werden diese Nukleobasen zu weit in die Membran hineingezogen (s. Abb. 97). Es konnte nun erwartet werden, dass sich diese Situation ändert, wenn der Lipidanker am Zucker befestigt ist (s. Abb. 98).

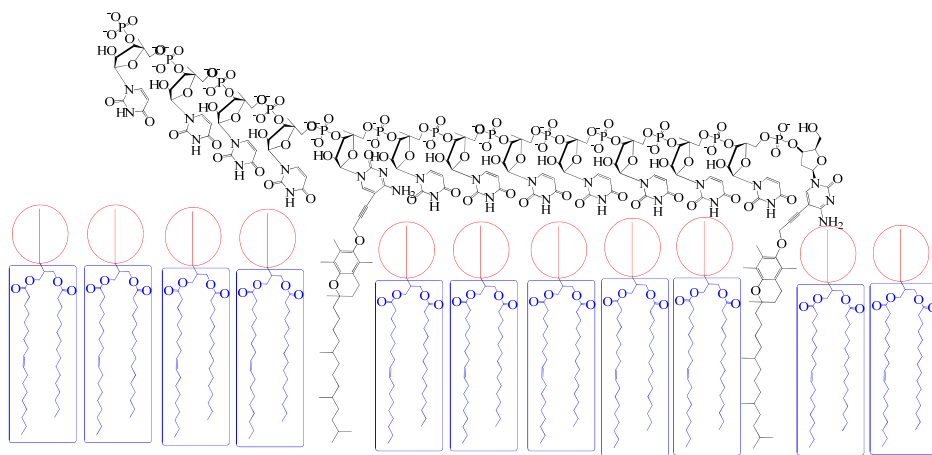


Abbildung 97: Schematische Darstellung eines Oligonukleotides 5'-U_LUU-UUU-UUU_L-UUU-U-3', wobei **L** der Anker an der 5-Position des Uridins ist.

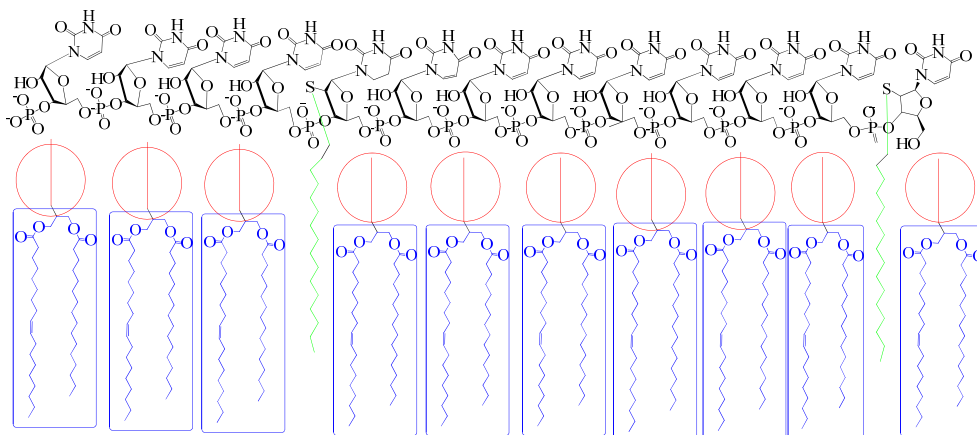


Abbildung 98: Schematische Darstellung eines Oligonukleotides 5'-U_LUU-UUU-UUU_L-UUU-U-3', wobei **L** den Anker an der 2-Position des Uridins ist

Das 2'-lipidierte Nukleosid **70b** wurde in eine analoge Oligonukleotidsequenz 5'-U_LTT-TTT-TTU_L-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (**Oligo1b**) eingebaut, wie sie auch bei den vorherigen Untersuchungen mit basenständigen Lipidanker (Flasche, 2005) verwendet wurde. Dabei ist **L** der lipophilen Anker an der 2'-Position des Uridins. Für NMR-Messungen wurde zusätzlich ein Oligonukleotid **Oligo2b** synthetisiert, das anstelle des Hexadecylthioether die perdeuterierte Kette trägt.

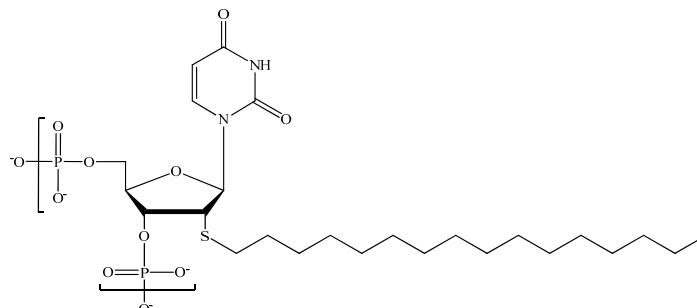


Abbildung 99: Monomer U_L des untersuchten Oligonukleotides

Wie auch bei den Nukleosiden zeigten die ³¹P-Pulverspektren (s. Abb. 100), dass Oligonukleotide den Phasenzustand der Membran nicht stören, d.h. auch hier erhält man ein Spektrum, was für eine lamellare flüssig-kristallinen Phase der Membran spricht. Da im Gegensatz zu den Nukleolipiden durch das Phosphatrückgrat des Oligonukleotides weitere ³¹P einen Einfluss auf das Spektrum geben, sieht man einen zusätzlichen isotropen Peak. Dieser schmale Peak spricht für eine hohe Beweglichkeit des Phosphatrückgrates.

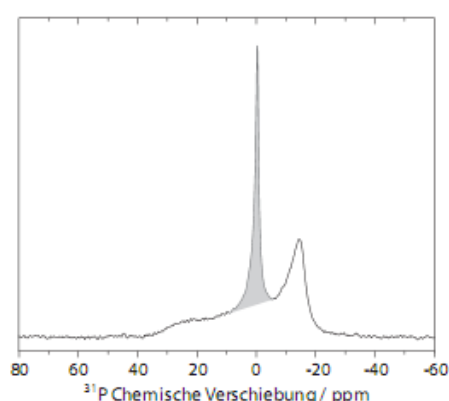


Abbildung 100: ³¹P-NMR-Spektrum von POPC Membranen in Gegenwart des lipophilen Oligonukleotid **Oligo1b** bei einem Wassergehalt von 65 wt% (303 K). Die isotrope Linie wurde grau hinterlegt

	$\Delta\sigma$ /ppm	S_{AV}	$\langle L_C \rangle$ / Å
POPC(-d ₃₁) + 5 mol% DOTAP	47,2	0,158	11,61
POPC/ Oligo1b + 5 mol% DOTAP	44,3	0,154	11,50
POPC(-d ₃₁)	45,2	0,154	11,48

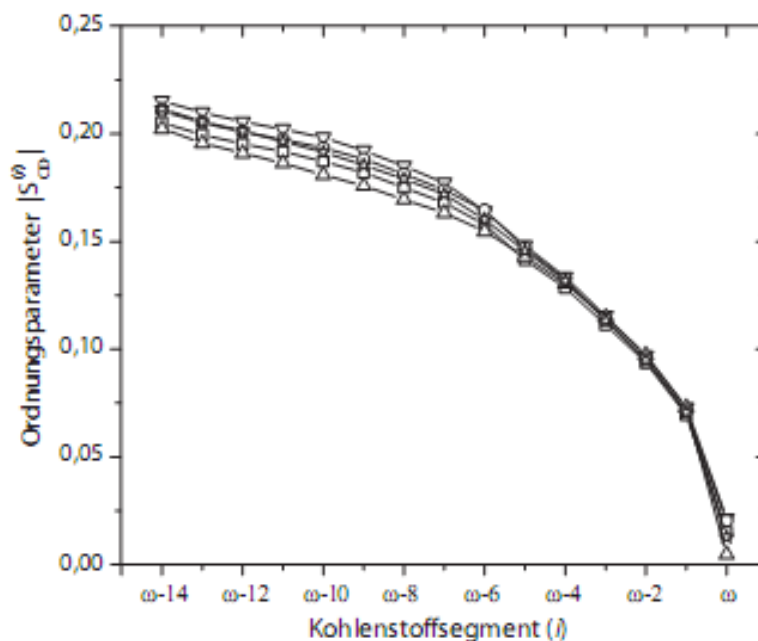


Abbildung 101: Geglättete ^2H -NMR-Ordnungsparameterprofile der Proben POPC- d_{31} (\square), **Oligo7**/POPC- d_{31} (\square), **Oligo8**/POPC- d_{31} (4), POPC- d_{31} + 5 mol% DOTAP (O) und **Oligo1b**/POPC- d_{31} + 5 mol% DOTAP (I) bei einem eingesetzten molaren Verhältnis POPC/Oligonukleotid 100/1 (für **Oligo1b** 200/1), Wassergehalt von 65 wt%, 303 K

Zur Bestimmung der Ordnungsparameter der Phospholipidmembran wurden ^2H -Spektren aufgenommen (s. Abb. 101). An diesen erkennt man, dass die verankerten Oligonukleotide die Ordnung der Membran kaum stören, was für eine gute Inkorporierung spricht. Dabei sind die Oligonukleotide **Oligo7** und **Oligo8** jene, welche den lipophilen Rest als Tocopherol an der 5-Position der Base tragen (Flasche, 2005) und das Oligonukleotid **Oligo1b** dasjenige, mit dem 2'-lipidierten Nukleosid **70b**.

Die Darstellung des ^2H -Spektren, aus denen die obengenannten Daten gewonnen wurden, zeigen sehr deutlich den großen isotropen Peak bei der Messung des Oligonukleotides **Oligo2b** mit dem deuterierten lipophilen Rest (s. Abb. 102 A), was wie oben schon erwähnt, für eine gute Beweglichkeit des Oligonukleotides spricht und demzufolge für eine schlechte Insertierung in die Membran. Die Verankerung ist demnach für diesen Fall schlechter, als bei der Verwendung von Oligonukleotiden mit einem Tocopherolanker an der 5-Position der Base, weswegen auch erst eine Zugabe von 5 mol% DOTAP (ein positiv geladenes Lipid) eine erfolgreiche Insertierung ermöglicht (s. Abb. 102 B). Durch ^2H -NMR Spin-Gitter-Relaxationsmessungen konnte bei den Oligonukleotiden keine Störung der Membranelastizität festgestellt werden.

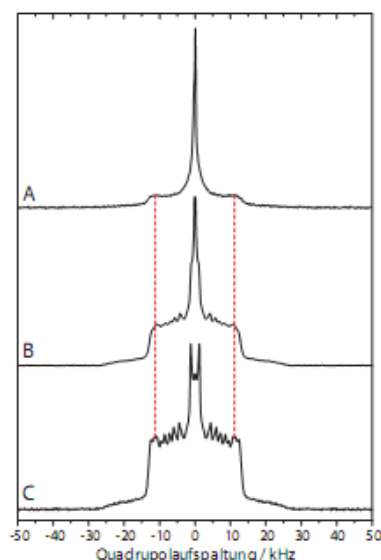


Abbildung 102: ²H-NMR-Spektren der Proben (A) **Oligo2b**-d₆₆/POPC, (B) **Oligo1b**/POPC-d₃₁ + 5 mol% DOTAP und (C) POPC-d₃₁ + 5 mol% DOTAP bei einem Wassergehalt von 65 Gewichtsprozent. Die Spektren wurden bei 303 K aufgenommen. Die roten Linien sollen dem Leser bei der Bestimmung der Position der Plateaupeaks helfen

Es konnte gezeigt werden, dass das Oligonukleotid **Oligo1b** in Membranen inseriert, wenn auch schlechter als die Oligonukleotide **Oligo7** oder **Oligo8** mit nukleobasenständigen Anker. Die Struktur der Phospholipidmembran wird dabei nicht gestört. Doch sind nun die erwartenden Basenpaarungen an den ankertragenden Nukleotiden möglich? Weiterhin ist zu klären, ob 2'-modifizierte Nukleoside die Duplexbildung der DNA stabilisieren oder destabilisieren. Kottysch *et al.* (Kottysch *et al.*, 2004) konnten zeigen, dass die Einführung von 5-modifizierten Uridin in einer DNA die T_m des Duplex über einen großen Bereich beeinflussen (+3.6 °C bei 10mM NaCl eines 12mer). Um diese Fragestellungen zu klären, bediente man sich der DSC-Messung (Duguid *et al.*, 1996). Unter anderem fanden Letsinger *et al.* (Letsinger *et al.*, 1993) bei der Bestimmung von Schmelztemperaturen von Oligonukleotiden, dass durch die Anwesenheit von zwei hydrophoben Gruppen (Cholesterol) die hydrophoben Kräfte zwischen dem Cholesterol so stark sind, dass ein polyA und ein polyT-Strang eine normalerweise instabile, parallele Orientierung aufweisen.

Für die im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit durchgeführten DSC-Messungen wurde zuerst eine Kalibrierungskurve durch Messungen der Schmelztemperaturen von 10T/10A-, 15T/15A-, 20T/20A- und 25T/25A-Duplexen ermittelt. Anschließend wurden die Schmelztemperaturen der lipophilen Oligonukleotide und ihre komplementären Partnern (A25) zum einen in Lösung und zum anderen membranassoziiert gemessen. Die Messung der Oligonukleotide **Oligo8** und **Oligo1** wurden bei höherer Salzkonzentration durchgeführt (150 mM KCl, statt 50 mM KCl, wie bei dem Oligonukleotid **Oligo7** und dem unmodifizierten Oligonukleotid). Zum einen stellte es sich heraus, dass die lipophilen Oligonukleotide in Lösung mehr Basenpaarungen eingehen, als in der Membran, nämlich statt 17 sind es 19 Basenpaare, was für eine Einbeziehung des lipophilen Nukleosides in Lösung spricht. Dem ist aber nicht so, wenn es membrangebunden ist. Zum anderen erkennt man eine um ~4 BP geringere Affinität gegenüber einem unmodifizierten Oligonukleotid **Oligo10** mit der Sequenz 5'-CTTTTTTC TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3'. Die beiden Cytidine in der Sequenz sollen eine Fehlpaarung simulieren. Diese verringerte Basenpaarung bestätigt den störenden Einfluss des lipophilen Ankers bei der Doppel-

strangbildung. Somit ist es gleich, wo sich der lipophile Anker am Nukleosid befindet, denn weder verbessert die Position im Nukleosid die Duplexbildung des Oligonukleotides noch findet eine Basenpaarung über das Nukleotid mit dem lipophilen Rest hinweg statt.

Oligonukleotid	Schmelztemperatur $T_M / ^\circ\text{C}$	Anzahl Basenpaarungen n
Oligo7 (Membran)	39,5	17,5
Oligo8 (Membran)	44,4	15,8
Oligo1b (Membran)	47,2	17,4
Oligo1b (Lösung)	50,0	19,4
Oligo10 (Lösung)	46,1	22,9

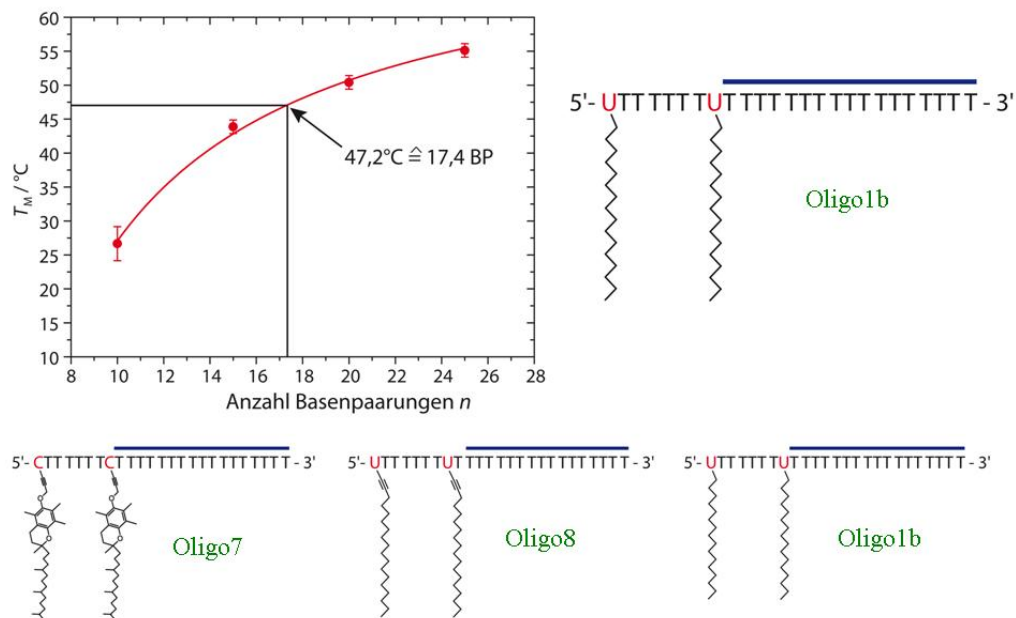


Abbildung 103: Darstellung der für die molekulare Erkennung komplementärer Nukleinsäuren aktiven Bereiche der membranassoziierten lipophilen Oligonukleotide. Der blaue Balken gibt den Teil der lipophilen Oligonukleotide an, der mit komplementären Strängen eine Helix ausbilden kann

2.10. Untersuchungen an LB-Filmen

In Kapitel 1.2.2 wurde beschrieben, dass die von Ahlers *et al.* (Ahlers et al., 1990) untersuchten Nukleolipide an der Wasser-Luft-Grenzfläche stabile Monolayer von Langmuirfilmen bilden, wobei die hydrophile Kopfgruppe mit der Subphase und der hydrophobe Teil mit der Atmosphäre in Verbindung stehen. An der im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten Nukleolipide **4/5** wurden von Dr. Osvaldo Novais de Oliveira Jr. am physikalischen Institut der Universität Sao Paulo Langmuir-Blodgett-Untersuchungen auf einen festen Träger durchgeführt. Die experimentellen Details seien bitte aus seinen Arbeiten zu entnehmen. Die Ergebnisse werden im Folgenden gezeigt.

Ein wichtiges Hilfsmittel zur Untersuchung der physikalischen Eigenschaften und zur Übertragung einer oder mehrerer Schichten auf feste Substrate (z.B. einen Glasobjektträger) ist die Filmwaage (Albrecht et al., 1978; Roberts, 1990). Dies ist ein mit Teflon behandelter Trog, der die Subphase enthält, meist hochreines Wasser. Das Nukleolipid wird in Chloroform gelöst und dann auf die Oberfläche gespreitet. Durch eine bewegliche Barriere kann die der Monoschicht zur Verfügung stehende Oberfläche variiert werden. Bei der Kompression durchläuft die quasizweidimensionale Monoschicht den dreidimensionalen Systemen analoge Aggregatzustände: gasförmig ungeordnet, flüssig-analog und kondensiert. Demzufolge lassen sich auch für Langmuirfilme Druck-Flächen-Diagramme erstellen. Ein solches Diagramm (π - \AA^2 , isotherm) von **4/5** (OK 211) ist in Abbildung 104 dargestellt. Dabei wurden unterschiedlichen Mengen des Nukleolipides (1-4 μL) auf die Oberfläche gespreitet. Aus dem Diagramm ist zum einen zu entnehmen, dass der Kollapsdruck oberhalb 40 mN/m liegt und zum anderen, dass die Moleküle bei kleineren Volumina in der flüssig-kondensierten Phase einen Platzbedarf von 70-90 \AA^2 benötigen. Dieser Platzbedarf steigt jedoch deutlich zu höheren Volumina an. Weiterhin lässt sich ablesen, dass diese Nukleolipide sich ähnlich dem Phospholipid verhalten. Wie auch bei den Phospholipiden bildet das Nukleolipid **4/5** zwischen der L2 (*liquid condensed phase*) -L1 (*liquid fluid phase*)-Phase eine horizontale Übergangsphase.

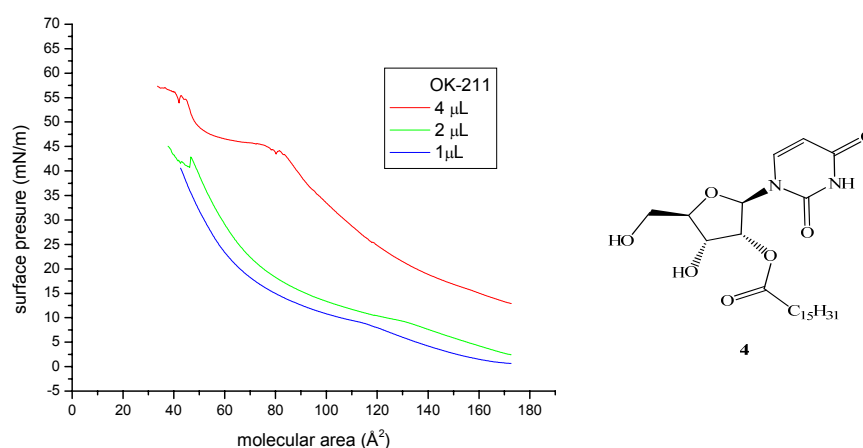


Abbildung 104: Druck-Flächen (π - \AA^2)-Diagramm (isotherm) von **4/5**

Wird nun eine Mischung des Nukleolipides **4/5** und einem Phospholipid (z.B. DPPC) auf der Filmwaage gespreitet, erhält man die in Abbildung 105 dargestellte Isotherme. Es zeigt sich, dass sich die Isothermen zu

größeren Flächen verschieben, wenn das Volumen an **4/5** erhöht wird, was für eine gute Inkorporierung in die DPPC-Monolayer spricht.

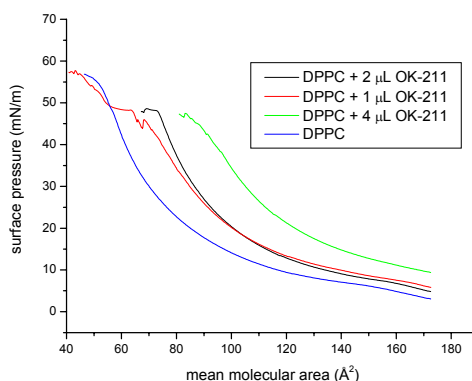


Abbildung 105: Druck-Flächen-Diagramm (π -Å², isotherm) von verschiedenen Mischungen aus **4/5** und DPPC

Die Übertragung von Langmuirfilmen auf Substrate zu LB-Filmen erfolgt mittels der Langmuir-Blodgett-Technik (Blodgett, 1935; Langmuir, 1916; Langmuir, 1917). Durch senkrechtes Eintauchen und Herausziehen des Substrates in die mit Langmuir-Film bedeckte Subphase wird der Film bei konstantem Oberflächendruck, dem sogenannten Transferdruck π_T , auf das Substrat übertragen. Um den Transferdruck während der Beschichtung konstant zu halten, müssen die Barrieren die Langmuir-Film-Fläche verringern. Der Nachweis einer erfolgreichen Übertragung des Nukleolipides **4/5** auf das Quarzsubstrat bei einem Transferdruck von 30 mN/m erfolgte anhand UV-Vis-spektroskopischen Messungen des LB-Filmes und des Nukleolipides in Lösung (s. Abb. 106).

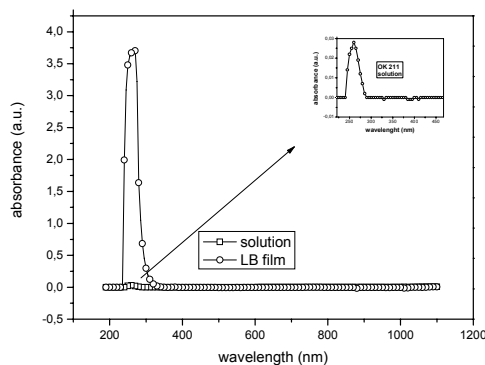


Abbildung 106: UV-VIS-Spektrum des Nukleolipides **4/5** in Lösung (CHCl₃) und im LB-Film

Der Transfer des gemischten DPPC/OK211 Langmuir-Film bei 30mN/m von der Wasserphase auf das Quarz, ließ sich ebenfalls mittels UV-Vis-Spektren nachweisen.

Letztendlich stellte es sich heraus, dass dieses Nukleolipid **4/5** und wahrscheinlich auch noch andere synthetisierte Nukleolipide oberflächenaktiv sind und stabile Langmuir-Filme ausbilden können, obgleich Aggregation auftreten kann. Auch ein Transfer auf Quarz in Form von LB-Filmen konnte nachgewiesen werden. Weitere Ergebnisse zu anderen dargestellten Nukleolipiden stehen noch aus.

2.11. Biophysikalische Untersuchungen

Neben den NMR-spektroskopischen Messungen gibt es weitere Möglichkeiten, die Inkorporierung von biologischen Molekülen, wie Nukleoside oder Oligonukleotide, in Membranen nachzuweisen. Dies sind z.B. die FT-SERS (*fourier transform surface-enhanced Raman scattering*) (Huang et al., 2000), die Mikrokalorimetrie (Pozharski und MacDonald, 2002; Pozharski und MacDonald, 2003), die ERS (*external reflection spectroscopy*) (Meister et al., 2006), die AFM (*atomic force microscopy*) (Milhiet et al., 2006) und auch die Fluoreszenzspektroskopie.

Zur Überprüfung des Ankerungsvermögens der lipophilen Oligonukleotide an Modellmembranen wurden verschiedene fluoreszenzspektroskopische Messungen durch Dr. Anke Kurz, Ines Ajili, Ruth-Hendus Altenburger, Dr. Anna Arbuzova und Dipl. Chem. Martin Loew aus der Arbeitsgruppe um Prof. Andreas Herrmann (Humboldt-Universität zu Berlin) durchgeführt. Von diesen werden im Folgenden einige vorgestellt. Darüber hinaus wird auf Zielstellungen eingegangen, die mit Hilfe der in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Oligonukleotide verfolgt werden sollten, auch wenn dafür die biophysikalischen Messungen noch ausstehen.

Die Untersuchungen erfolgten an LUVs oder GUVs, die nach Vorschriften von Hope *et al.* (Hope et al., 1985) und Mathivet *et al.* (Mathivet et al., 1996) dargestellt wurden. Mittels Absorptionsmessungen nach einer Ultrazentrifugation von Saccharose-gefülltem LUV (Murray et al., 1998) konnte bestimmt werden, wie viel von dem eingesetzten Nukleolipid in die Membran inkorporiert ist. Bei den Untersuchungen zu **22** wurde festgestellt, dass das Nukleolipid sich vollständig und stabil in die Membran eingebaut hat. Vorige NMR-spektroskopische Untersuchungen (s. Abs. 2.9) zeigten, dass die Nukleobase von dem lipidierten Nukleosid **22** (OK 124) weit genug in die wässrige Phase reicht, um für Basenpaarungen zur Verfügung zu stehen. Zur Charakterisierung dieser Aussage wurden Vesikel unterschiedlicher Größe aus POPC hergestellt. Als Puffer wurde 50 mM KCl, 10 mM HEPES bei pH 8,0 eingesetzt. Die GUVs wurden mit dem Nukleolipid **22** und einem fluoreszenzmarkierten 5'-Rh-A20mer bei Raumtemperatur über Nacht inkubiert. Bei den anschließenden Messungen konnte jedoch keine Membranbindung von 5'-Rh-A20 an Vesikel mit dem Nukleolipid **22** (10% in POPC-MLVs, LUVs, GUVs) nachgewiesen werden. Auch nach der Zugabe von 5mol% DOTAP wurde mittels Fluoreszenzspektroskopie keine Membranbindung beobachtet. Demnach steht das Nukleolipid **22** einer Membranbindung zu Oligonukleotiden doch nicht zur Verfügung, wie es NMR-spektroskopische Untersuchungen vermuten ließen.

Neben dem Nukleolipid **22** wurden auch andere Nukleolipide erfolgreich in POPC-LUVs eingebaut (s. Tab. 14). Dazu wurde jeweils ein Gemisch von POPC, Monomer und einem fluoreszenzmarkiertes Lipid (Rh-PE 0,1%, NBD-PE 0,5-1%) in CHCl₃ hergestellt. Durch Entfernung des Lösungsmittels an einem Rotationsverdampfers (40°C, maximales Vakuum) wurde ein Lipidfilm erzeugt, welcher mit Saccharosepuffer suspendiert (Lipidkonzentration von 2mM) wurde. Die so erhaltenen MLVs wurden 10 Frier-Tau-Zyklen unterworfen, extrudiert (10-mal, 100 nm Filter), mit dem vierfachen Volumen isosmotischen KCl-Puffer versetzt und abzentrifugiert (Ultrazentrifuge, ~140'000g), um ungebundene Monomere, zu kleine oder „undichte“ Vesikel zu entfernen. Der Überstand wurde abgenommen und das Pellet im Ausgangsvolumen KCl-Puffer resuspendiert. Durch die Aufnahme von Absorptionsspektren (260 nm) der resuspendierten LUVs und des Überstands und deren Vergleich, konnten Aussagen über die Bindung der Monomere in Lipidvesikel gemacht werden.

Monomer	Anteil/mol%	Anteil POPC/mol%	Einbau in LUVs
22	10	90	vollständig
	20	80	vollständig
129	20	80	vollständig
27	20	80	vollständig
31	10	90	vollständig
	20	80	vollständig
22/31	20/20	60	vollständig
	50/50	0	keine Bildung von LUVs

Des Weiteren wurde untersucht, wie sich zwei Vesikelsorten mit den jeweiligen komplementären lipophilen Nukleosiden verhalten, wenn sie zueinander geführt werden. Um dies zu überprüfen, wurden POPC-LUVs A präpariert, welche das Nukleolipid **22** (OK 124) + NBD-PE enthalten und auf der anderen Seite POPC-LUVs B, welche mit dem komplementären Nukleolipid **132** (CC 12) und Rh-PE ausgestattet sind (s. Abb. 107). Wenn der Abstand zwischen beiden Vesikeln den Försterradius von 6nm unterschreitet (Struck et al., 1981), sollte dies ein FRET zwischen dem NBD und dem Rhodamin hervorrufen. Da die typische Bindungslänge von Wasserstoffbrücken nur 0.18 nm beträgt, sollte also bei einer möglichen Basenpaarung ein FRET gemessen werden. Abbildung 108 zeigt jedoch, dass die Fluoreszenzmessungen keine Veränderung ergeben, sprich es zu keinen FRET zwischen den Vesikeln kommt, was gegen eine Basenpaarung zwischen den Nukleolipiden spricht.

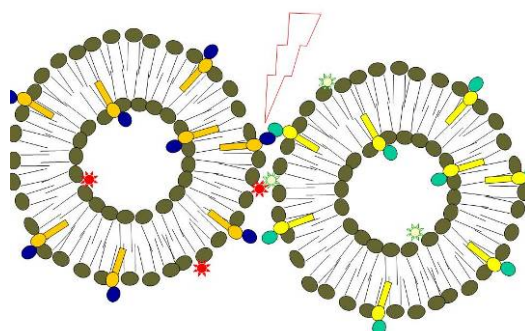
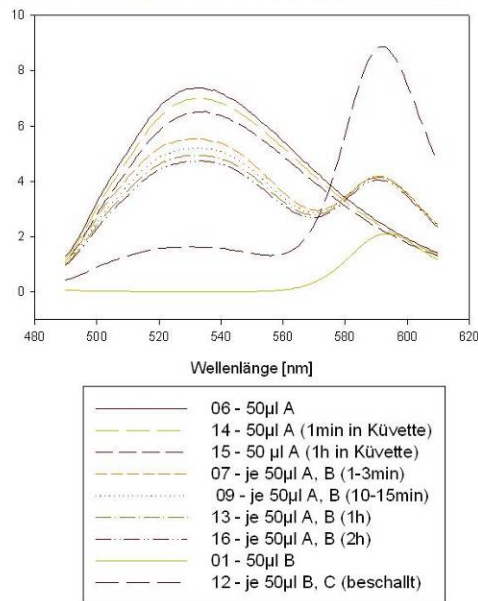


Abbildung 107: Schematische Darstellung des erwarteten Bindungsexperimentes von Dr. A. Kurz

Dies kann unter anderem daran liegen, dass das Nukleolipid **129** zu weit in der Membran verankert ist, da es den lipophilen Anker an der C8-Position des Adenins trägt und im Gegensatz zu dem 2'-lipidierten Nukleolipid **22** kaum eine Basenpaarung ausbilden kann (Bunge, 2008). Um dies zu klären ist es angedacht, statt des Nukleolipides **129**, das POPC-LUV mit dem lipidierten Adeninderivat **31** zu inkubieren, welches wie **22** einen zweikettigen

gen Anker an der 2'/3'-Position über einen Spacer verbunden trägt. Die Ergebnisse zu diesen Messungen stehen noch aus.

Vesikel A (OK-124+ NBD-PE) und B (CC12+Rh-PE)



Vesikel B (CC12+Rh-PE) und C (POPC+NBD-PE)

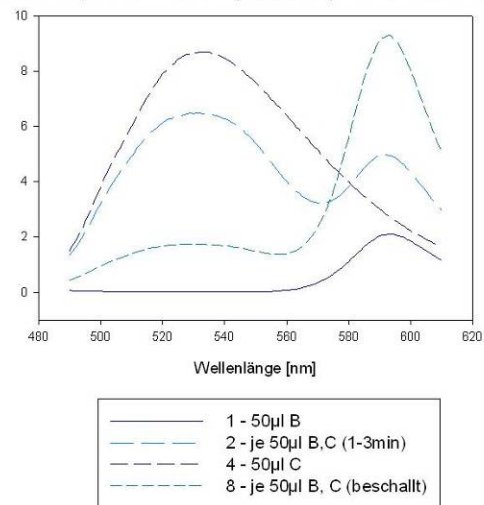


Abbildung 108: FRET-Messungen der Vesikel A + B (links) und einer Vergleichsmessung mit den Vesikel B + C (rechts) von Dr. A. Kurz und Dr. A. Arbuzova

Frühere Publikationen aus unserem Arbeitskreis stellten dar, dass lipophile Oligonukleotide mit komplementären Oligonukleotidsträngen Basenpaarungen eingehen (siehe auch Abschnitt 2.9). Es zeigte sich aber auch hier deutlich, dass lipophile Oligonukleotide mit unverzweigten Alkylketten schlechter in Membranen binden, als solche mit verzweigten Ketten, wie z.B. α -Tocopherol. Erst durch die Verwendung einer höheren Salzkonzentration (150 mM KCl, statt 50 mM KCl) bei dem Oligonukleotid **Oligo8** oder der Zugabe von 5 mol% DOTAP bei dem Oligonukleotid **Oligo1b**, konnten jene in die Membran inkorporiert werden. Dabei wird durch die höhere Salzkonzentration und/oder der Zugabe des kationischen Lipids die Born-Abstoßung zwischen dem Phosphatrückgrat der DNA und dem Phosphaten des Lipids vermindert, was zu einer attraktiven Einverleibung des lipophilen Oligonukleotides in die Membran führt. Die erfolgreiche Inkorporierung konnte durch Zentrifugationsassays bei der Präparation von Saccharose-gefülltem Luv mit den entsprechenden Oligonukleotiden nachgewiesen werden. Aus diesem Grunde wurden für weitere Messungen Oligonukleotide, welche α -Tocopherol oder auch Cholesterol (s. Abs. 2.8) als lipophilen Anker tragen, verwendet.

Für spätere biotechnologische Anwendungen konnte mit Hilfe dieser synthetisierten lipophilen Oligonukleotide gezeigt werden, dass zwei vesikelmembranverankerte Oligonukleotide, welche komplementäre Enden tragen, eine Doppelhelix miteinander bilden und so diese beiden Vesikel auf einen definierten Abstand halten können (Loew et al., 2008). Dazu wurden LBL-Partikel (Layer-by-Layer) verwendet. LBL-Partikel sind Nanopartikel, welche aus einzelnen Lagen von anionischen (PSS = Poly(styrolsulfonat)) und kationischen Polymeren (PAH = Poly(allylamin)) gebildet werden (s. Abb. 109). Sie zeigten in jüngster Zeit ihre Stärken dadurch, dass sie sehr gut als Nanocontainer für biologische Zwecke genutzt werden (Peyratout und Dahne, 2004), da sie eine hohe chemische Stabilität besitzen, monodispers und biologisch abbaubar sind (Moya et al., 2003; Zhang et al., 2004), sowie über einen großen Volumenbereich (100 nm bis 15 µm) verfügbar sind

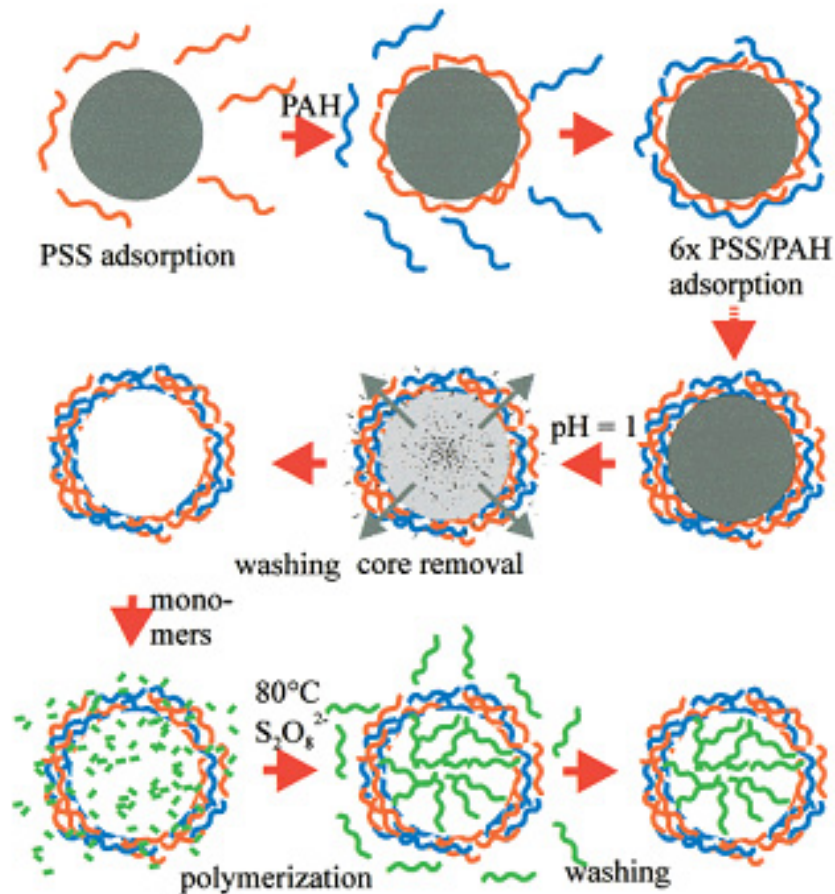


Abbildung 109: Schema der Kapselpräparation mittels der LBL-Technologie (Peyratout und Dahne, 2004)

Wenn man nun ein Oligonukleotid kovalent an solch ein LBL-Partikel bindet (durch Jing Kang und PD Lars Dähne, Capsulation AG), kann eine Doppelstrangbildung mit einem komplementären lipidierten Oligonukleotid **Oligo5a**, welches in einem LUV (enthält POPC und NBD-PE) eingelagert ist, erfolgen. Dadurch wird die LBL-Partikeloberfläche mit diesen LUVs bedeckt (s. Abb. 110a). Der Nachweis erfolgte durch den Einsatz der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie und einer abbildenden Mikroskopie, welches die Differential-Interference-Contrast (DIC) Methode verwendet. Diese Kombination erlaubt es zum einen die LBL-Partikel sichtbar zu machen und zum anderen eine örtliche Fluoreszenz des NBDs. Ein Kontrollexperiment mit einem nichtkomplementären Strang zeigte diese Fluoreszenz nicht (s. Abb. 110b). In vorigen Experimenten konnte gezeigt werden, dass Oligonukleotide auf GUVs oder LUVs homogen verteilt sind. Auf diese LUV-Schicht lässt sich demnach durch Doppelstrangbildung eine weitere Lage von LUVs aufbringen, die einen anderen Fluoreszenzmarker und ein zur ersten Schicht lipidiertes, komplementäres Oligonukleotid **Oligo9** tragen (s. Abb. 110c). Da die zweite Vesikelsorte statt NBD-PE, das Rh-PE, enthält, kann unter Verwendung zwei unterschiedlicher Fluoreszenzkanäle der Nachweis einer zweiten Schichtbildung erfolgen. Wie bei der LBL-Technologie kann man nun durch weitere Zugabe des jeweils komplementären membrangebunden lipophilen Oligonukleotides eine Schicht nach der anderen aufbauen (s. Abb. 110e).

Für diese Experimente wurde das Oligonukleotid **Oligo5a** mit der Sequenz 5'-U_LTT-TTT-U_LTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-T-3' (25mer) und das Oligonukleotid **Oligo9** mit der Sequenz 5'-C_LCC-CCC-CC_LA-AAA-AAA-

AAA-AAA-AAA-A-3' (25mer) verwendet. Dabei ist L ein α -Tocopherolrest, welcher an der 5-Position der Nukleobase verknüpft ist.

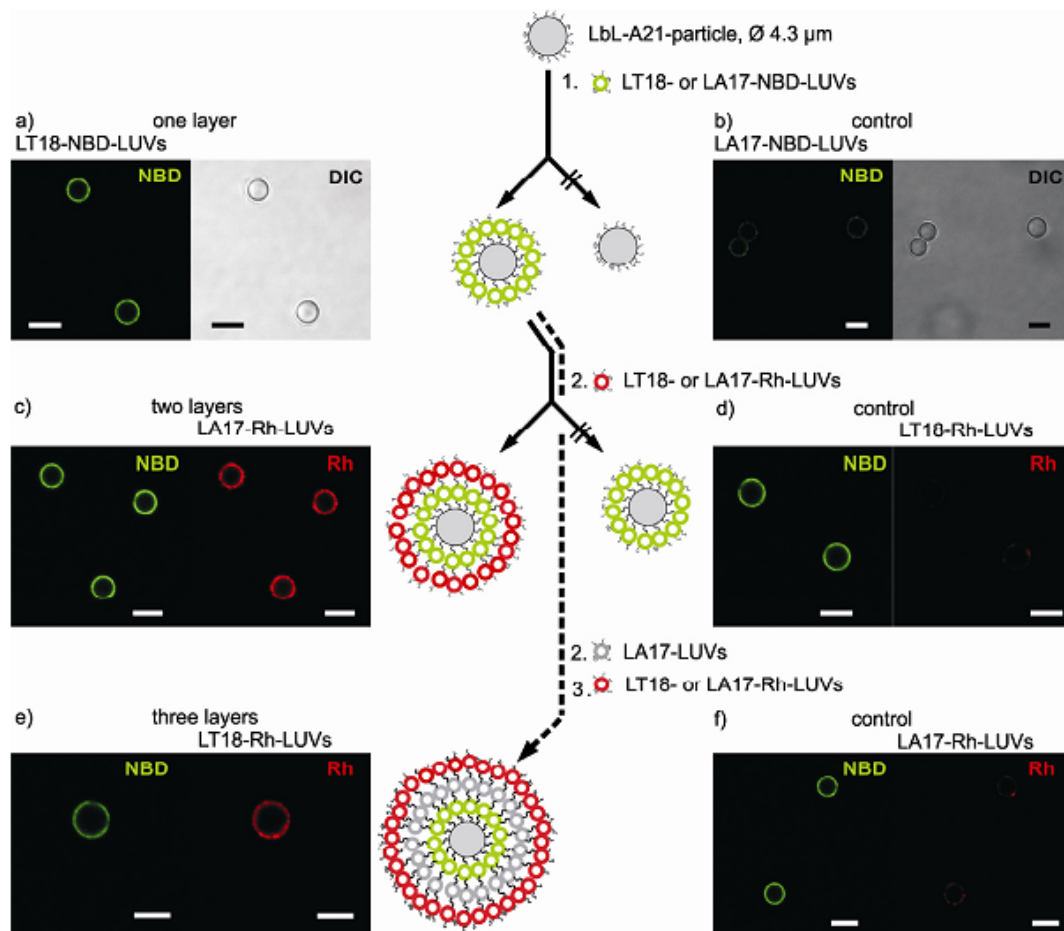


Abbildung 110: Bedecken eines LbL-A21-Partikel mit unterschiedlichen LUV-Schichten, welche die membrangebundenen Oligonukleotide **Oligo5a** und **Oligo9** enthalten

Nun war ein weiteres Ziel der Arbeit eine Hemifusion und eine anschließende Fusion von Vesikeln, die lipophile Oligonukleotide tragen, herbeizuführen. Die Arbeitsgruppen um Höök (Stengel et al., 2008; Stengel et al., 2007) und auch Boxer (Chan et al., 2008) adaptierten dazu den aus der Natur bekannten SNARE-Mechanismus, um zwei Vesikel mit einander zur Fusion zu bringen (s. Abs. 1.2.1). Auch wir wollen diese Methode anwenden, um zwei Vesikelsorten zur Fusion zu bringen. Für diese Experimente wurden folgende Oligonukleotide synthetisiert.

Oligo5b (D53) 5' - TU_LCCCCCU_LTTTTTGTGCTTCAGC -3' (24mer)

Oligo5d (D55) 5' - TTCCTGGAAGCAGGTTU_LCCCCCU_LT-3' (24mer)

Dabei ist L ein α -Tocopherolrest, welcher an der 5-Position des Uridins verknüpft ist.

Es zeigte sich in ersten Versuchen, dass diese Oligonukleotide bei Raumtemperatur aggregieren, jedoch bei höheren Temperaturen, wie erwartet in Membranen einlagern. Durch die Zugabe eines dritten Oligonukleotidstranges, sollte nun mit diesen Oligonukleotiden eine Vesikelfusion getriggert werden (s. Abb. 111). Ziel war es, zu zeigen, dass im Falle B Aggregation der unterschiedlichen Vesikel, aber keine Fusion auftritt, jedoch im Falle A eine Fusion durch Verwendung eines anderen komplementären Stranges nachgewiesen werden kann. Weiterhin

sollte gezeigt werden, dass durch Zugabe des komplementären Stranges aus A im Falle B eine Fusion durch eine Konformationsänderung hervorgerufen werden kann. Die experimentellen Ergebnisse dazu stehen jedoch noch aus.

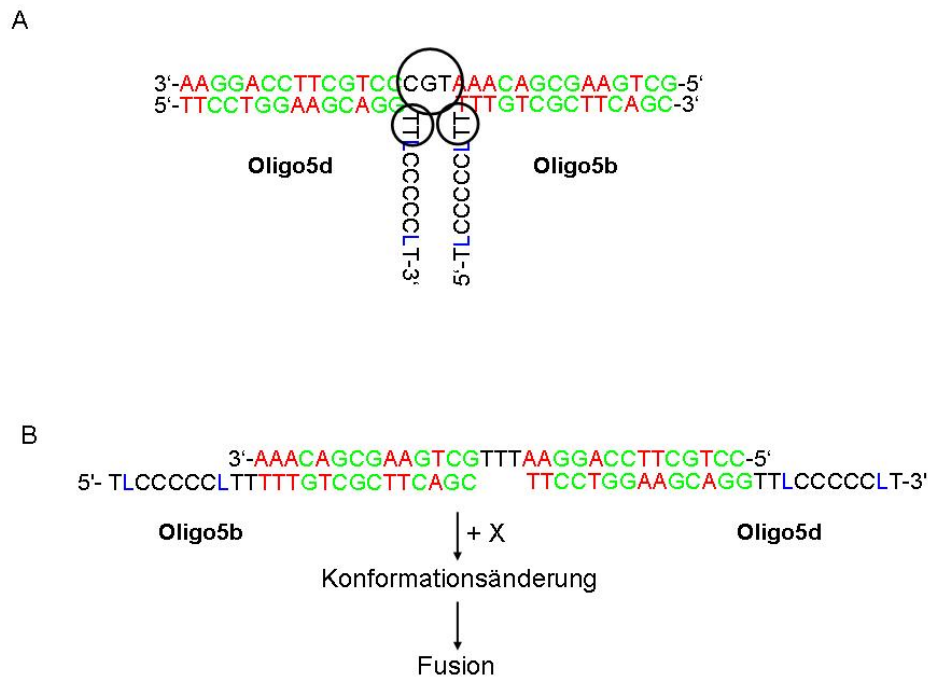


Abbildung 111: Theoretische Möglichkeiten der Duplexbildung der Oligonukleotide **Oligo5b** und **Oligo5d** mit einem dritten Oligonukleotidstrang

Eine weitere Verwendung der lipophilen Oligonukleotide besteht in der Adaptierung des Systems von Höök (Stengel et al., 2008; Stengel et al., 2007) durch Duplexbildung zweier lipophilen Oligonukleotide mit je einem lipophilen Anker in der gleichen Membran. Dafür wurden die Oligonukleotide **Oligo4a** und **Oligo4b** synthetisiert. Dabei ist **L** ein Cholesterolrest, welcher an der 5-Position des Uridins verknüpft ist.

Oligo4a (D64) 5'-TU_LTTTCTCACCTTCCATCTATTCCGTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3' (42mer)

Oligo4b (D65) 3'-TU_LTTTGAGTGGAAGGTAGATAAGGCA-5' (26mer)

Hierbei werden die beiden komplementären Oligonukleotide **Oligo4a** und **Oligo4b** mit jeweils einem lipophilen Anker in einer Membran verankert. Durch die folgende Duplexbildung könnte es möglicherweise zu einer stabileren Verankerung in der Membran kommen, wie sie bei Cholesterolankern beobachtet worden ist. An das klebrige Ende, kann zum einen ein weiteres komplementäres Oligonukleotid binden, welches einen Fluorophor am Ende trägt, wodurch eine Doppelhelixbildung nachgewiesen werden kann (s. Abb. 111).

Zum anderen kann auch ein komplementäres Oligonukleotid binden, welches in einer anderen Vesikel verankert ist. Dadurch würden beide Vesikel in eine räumliche Nähe kommen und könnten im günstigen Fall miteinander fusionieren. Eine dritte Anwendung dieses Systems, wäre das sequenzspezifische „Fischen“ von viralen DNA-Strängen aus Zelllysaten mit Hilfe des klebrigen Endes. Dadurch würde sich dieser virale Strang einer Lösung von vielen verschiedenen Oligonukleotidsträngen durch Immobilisierung an der Membran entziehen lassen und

man hätte ein System, um verschiedene DNA-Stränge nachzuweisen, je nachdem wie man das „sticky end“ gestaltet. Die Ergebnisse zu den Messungen stehen noch aus.

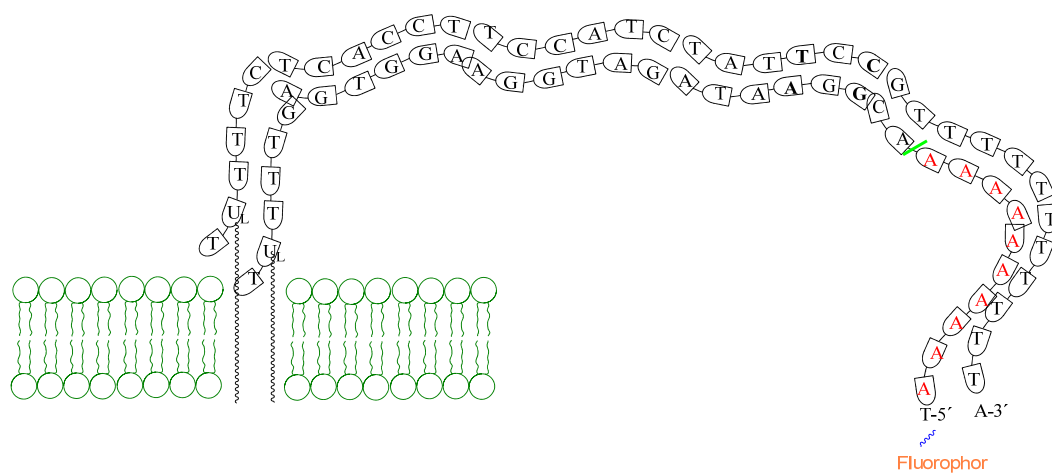


Abbildung 112: Theoretische Möglichkeit der Duplexbildung der Oligonukleotide **Oligo4a** und **Oligo4b**

2.12. AFM – Untersuchungen

Seit der Entwicklung der Rasterkraftmikroskopie (AFM) aus seinem Vorgänger der Rastertunnelmikroskopie (STM) durch Binnig *et al.* (Binnig *et al.*, 1986) ist es heutzutage möglich, biologische Strukturen, wie Proteine, Lipidmembranen, DNA und auch Zellen in ihrer natürlichen Umgebung zu beobachten. Dabei nutzt man den entscheidenden Vorteil des AFM gegenüber der STM aus. Während es beim STM noch zu einem Tunnelstrom zwischen der Metallspitze des Lesegerätes (Tip) und dem leitenden Probenmaterial kommt, um das Oberflächenprofil der Probe auszulesen, sind es beim AFM abstoßende oder anziehende Kräfte, welche zwischen den Atomen an der Spitze des Tips und den obersten Atomen der zu untersuchenden Probe wirken. Außer diesem wesentlichen Unterschied funktionieren beide Methoden nach demselben Prinzip. Der Tip, welcher sich an dem Cantilever befindet, nähert sich einer Probe an. Ab einem bestimmten Abstand (atomare Größenordnung) kommt es zu Wechselwirkungen zwischen dem Tip und der Probe. Durch die Oberflächenstruktur der Probe biegt sich dabei der Cantilever positionsabhängig unterschiedlich weit. Diese Verbiegung bzw. Auslenkung der Spitze kann mit kapazitiven oder typischerweise optischen Sensoren gemessen werden und ist ein Maß für die zwischen der Spitze und der Oberfläche wirkenden Kräfte. Bei der STM gibt es nur den *Non-Contact-Mode*, da ein Tunnelstrom zwischen dem Tip und der Probe gemessen wird. Man kann dabei die Kraft (also die Stromstärke) konstant halten und somit über Piezoelemente ein elektronisches Höhenprofil der Probe aufnehmen oder man hält die Höhe des Cantilevers konstant und misst die Veränderungen des Tunnelstroms, welcher in Abhängigkeit zum Abstand steht (Tunneffekt). Im Gegensatz dazu kann man das AFM auch in einem *Contact-Mode* fahren. Dabei wandert der Tip auf der Probe und man misst die abstoßenden Kräfte zwischen den Oberflächenatomen der Probe und denen des Tips. Im *Non-Contact-Mode* wird dagegen der Cantilever zum Schwingen gebracht und man misst durch die anziehenden Kräfte zwischen den jeweiligen Atomen des Tips und der Probe die erhöhte Schwingungsamplitude. Der Tip berührt bei dieser Methode die Probe nicht, was eine zerstörungsfreie Messung erlaubt. Als dritten Modi kann man auch den sogenannten intermittierenden Modus verwenden. Hierbei wird der Cantilever in Schwingung gebracht, jedoch berührt er die Probe, wodurch die Wechselwirkungskräfte zwischen der Spitze des Federbalkens und der Probenoberfläche die Resonanzfrequenz des Systems verändern, so dass sich die Schwingungsamplitude und -phase (zwischen Anregung und Schwingung) ändern.

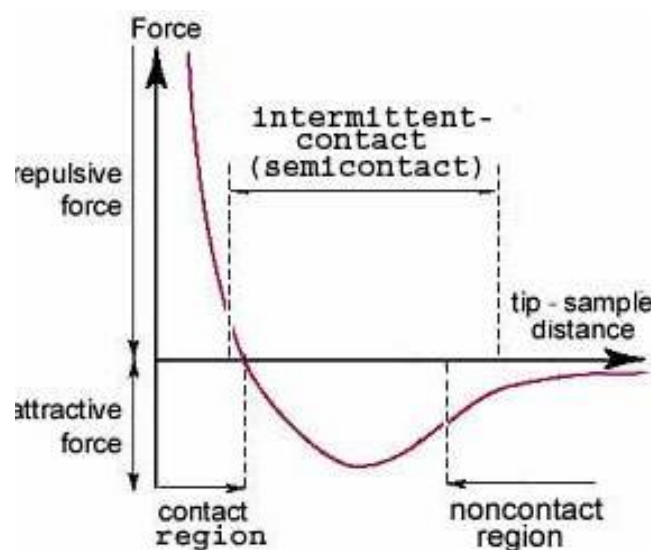


Abbildung 113: Die drei möglichen Modi in der AFM und ihr Messbereich

Durch diesen vielfältigen Einsatz der Modi des AFMs kann man sich die charakteristischen Strukturen, die Konformationsänderungen und auch das supramolekulare Zusammenlagern der Strukturen in molekularer Auflösung anschauen. Durch Manipulation des Auslesegerätes („*laboratory on a tip*“), kann man auch Adhäsionskräfte, die Elastizität, die Hydrophobizität der Strukturen und vieles mehr messen und beobachten (Alessandrini und Facci, 2005; Muller, 2008).

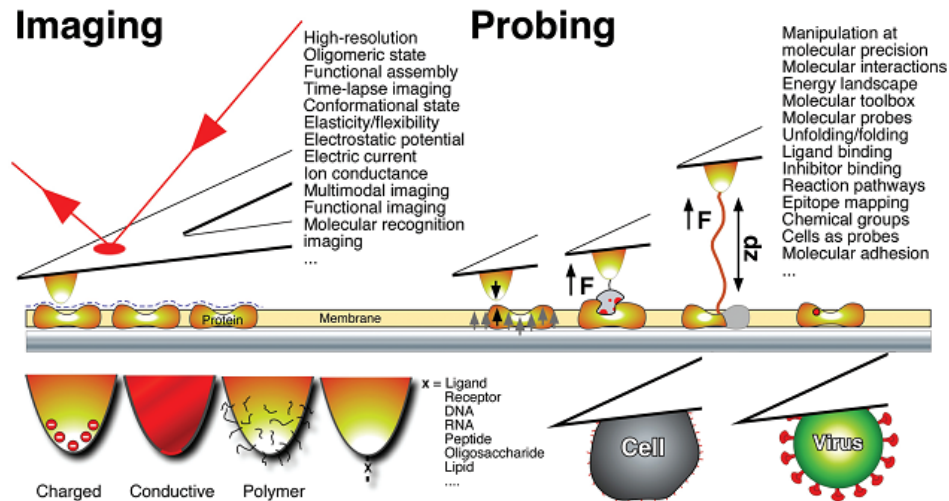


Abbildung 114: „*Laboratory on a tip*“ aus (Muller, 2008)

Die Gruppe um Pompeo *et al.* (Pompeo et al., 2005) untersuchte mittels AFM die Strukturen von Lipidmonoschichten, welche durch Rotationsbeschichtung (*spincoating*) von Lösungen aus DOTAP und DOPC in Chloroform auf eine Siliziumoberfläche aufgetragen worden sind. Dabei wurde beobachtet, dass DOPC unter bestimmten Bedingungen auf dem Trägermaterial vesikelähnliche Strukturen bildet. Erst durch die Zugabe von DOTAP oder durch Ändern der Parameter bei der Rotationsbeschichtung kommt es zur Bildung von Lipidschichten.

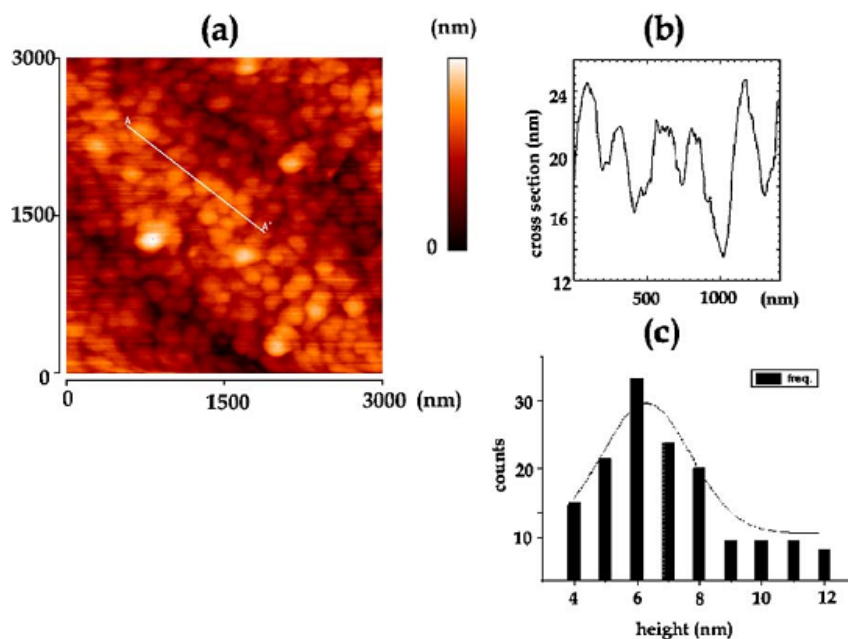


Abbildung 115: AFM-Aufnahme von DOPC auf einer Siliziumoberfläche (Pompeo et al., 2005). a) topographische Aufnahme auf 3x3 µm²; b) Querschnitt zwischen A-A'; c) statistische Auftragung der Vesikelgrößen

Erklärt wird die Ausbildung der vesikelähnlichen Strukturen durch den hydrophoben Effekt. Wenn man sich den Prozess der Ablagerung von Lipiden auf der Oberfläche anschaut, so spielen bei der Bildung von supramolekularen Strukturen (Vesikel, Liposomen, Schichten) zwei Prozesse die Hauptrolle. Zum einen der hydrophobe Effekt und zum anderen die Wechselwirkung zwischen dem Substrat (Wasser, Oberfläche) und der Probe. Durch den hydrophoben Effekt kommt es zur Ausbildung von Vesikeln in wässriger Umgebung, da die lipophilen Teile des Moleküls sich dieser polaren Umgebung entziehen. Während der Rotationsbeschichtung und/oder der Verdunstung des Lösungsmittels sind die Moleküle nur für einen kurzen Moment einer wässrigen Umgebung (Luftfeuchtigkeit) ausgesetzt. Auch die unmittelbar auf der Oberfläche liegenden Moleküle weisen hydrophile Wechselwirkungen mit dem Substrat auf. Beide können demnach supramolekulare Strukturen ausbilden. Lipide, welche sich weit weg von der Substrat- oder der Lipidoberfläche befinden, nehmen deswegen keine geordneten Strukturen ein. Unter den experimentellen Bedingungen kann es dadurch zur Ausbildung von teilweise geordneter Ablagerung der Lipide in überlagernden Ebenen von MLVs kommen. Durch Veränderung der Parameter lässt sich eine langsamere Verdunstung des Lösungsmittels erreichen, was zur Ausbildung von großen geordneten planaren Strukturen führen kann. Eine Quantifizierung der Ergebnisse geben Jurak *et al.* (Jurak und Chibowski, 2006; Jurak und Chibowski, 2007) durch die Bestimmung der Energie (*surface free energy*) zwischen der Oberfläche und der Flüssigkeit, wenn sich die Lipide ablageren.

Auch die Gruppe von Bagatolli *et al.* (Simonsen und Bagatolli, 2004) untersuchten das Verhalten von Lipiden auf Oberflächen mit AFM. Dazu erzeugten sie, mittels der Rotationsbeschichtung einer Lösung von POPC und DPPC in Hexan und 2-5 mol% Methanol auf Mica, Strukturen, welche sie untersuchten. Auch hier konnte je nach Konzentration des Lipids eine unterschiedliche Ausbildung von Lipiddoppelschichten beobachtet werden.

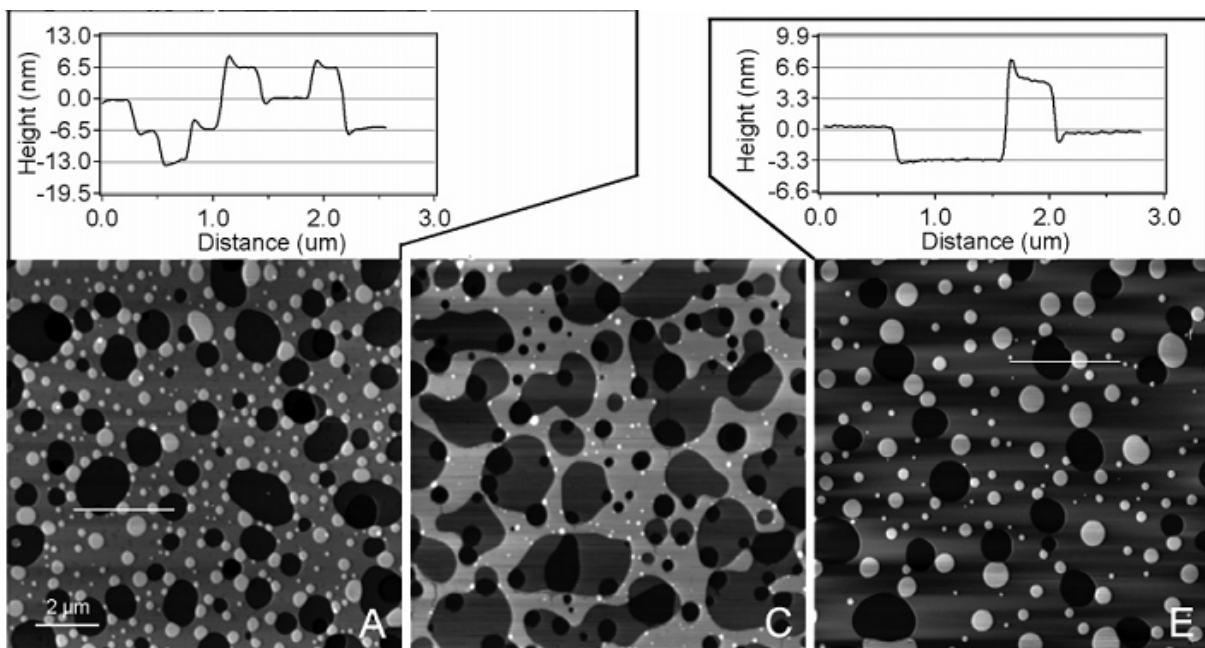


Abbildung 116: AFM-Aufnahmen von rotationsbeschichteten POPC-multilamellaren Filmen bei Raumtemperatur und einer Luftfeuchtigkeit von 20-40% (Simonsen und Bagatolli, 2004). Alle Aufnahmen bei $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ bei unterschiedlichen Lipidkonzentrationen: 5 mg/mL (A), 3 mg/mL (C) und 2 mg/mL (E). Die Filmoberfläche ist terrassenartig aufgebaut mit einer Stufenhöhe von $62 \pm 5 \text{ \AA}$ (siehe Querschnitt oberhalb der topographischen Aufnahmen)

Erklärt werden die beobachteten unterschiedlichen Lipiddoppelschichten durch das in Abbildung 117 dargestellte Modell.

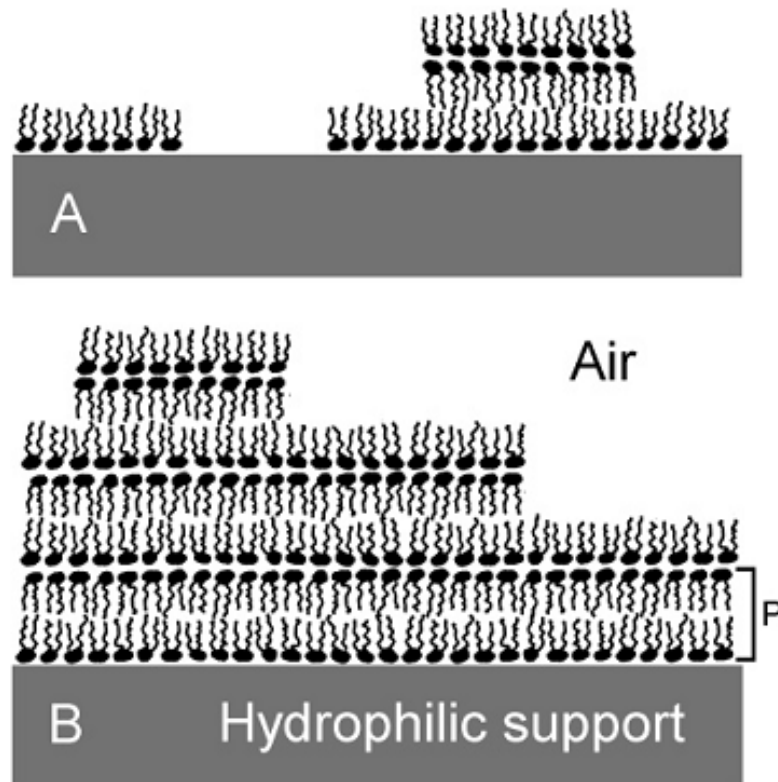


Abbildung 117: Schematische Darstellung der beobachteten Lipidschichten auf der hydrophilen Oberfläche. Bei geringer Lipidkonzentration wird nur wenig der Oberfläche beladen und man sieht viele Lücken und wenige Doppelschichten. Bei hoher Lipidkonzentration erfolgt eine vollständige Beladung der Oberfläche. Man beobachtet das Ausbilden der Treppenstruktur durch das Ausbilden von multilamellaren Schichten

Nun sollte man annehmen, dass lipophile Nukleoside auch dieses Verhalten zeigen, denn sie besitzen wie die untersuchten Phospholipide, eine oder gar zwei lipophile Alkylketten und eine hydrophile Kopfgruppe, in dem Falle das Nukleosid. Einige Publikationen, vor allem aus den Arbeitsgruppen von Barthelemy *et al.* (Barthelemy *et al.*, 2005; Barthelemy *et al.*, 2005; Bestel *et al.*, 2008; Moreau *et al.*, 2004) und Iwaura *et al.* (Iwaura *et al.*, 2007; Iwaura *et al.*, 2003; Iwaura *et al.*, 2002) bestätigten diese Annahme (s. Abs. 1.2.3).

Gottarelli *et al.* (Giorgi *et al.*, 2003; Gottarelli *et al.*, 2000; Pieraccini *et al.*, 2003) untersuchten mittels der AFM und der NMR-Spektroskopie das Verhalten von lipophilen Guanosinderivaten in Lösungen und auf festen Oberflächen. Beide Techniken konnten zeigen, dass sich bei der Selbstorganisation aufgrund des lipophilen Restes und des hydrophoben Kopfes in Abwesenheit eines Metalltemplates bandähnliche Strukturen ausbildeten. Bei Anwesenheit des Metalls bilden sich die bekannten G-Quartetts (Davis, 2004). Ebenfalls die Ausbildung solcher Bandstrukturen auf HOPG wurde von Barthelemy und Grinstaff *et al.* (Bestel *et al.*, 2008) mittels STM-Messungen von Nukleolipiden beobachtet (s. Abb. 118). Arbeiten von Jin *et al.* (Jin *et al.*, 2006) konnten anhand von AFM-Untersuchungen zeigen, dass die Position des lipophilen Ankers am Nukleosid oder der Nukleobase und auch die Anzahl der Ketten entscheidend sind, ob sich LB-Filme ausbilden. Desgleichen konnten in Arbeiten von Liang *et al.* (Huang *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 2000; Huang und Liang, 1997; Huang und Liang, 1998; Huang und Liang, 1998; Li *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2001; Miao *et al.*, 2003; Miao *et al.*, 2003; Miao *et al.*, 2003)

al., 2003; Wu et al., 2004) durch die Verwendung unterschiedlicher Nukleolipide mittels FT-Raman, FT-IR, FT-SERS und auch UV-VIS Spektroskopie nachgewiesen werden, dass diese Amphiphile sowohl stabile Schichten an Luft/Wasser-Grenzschichten, als auch auf festen Trägern ausbilden (s. Abb. 119).

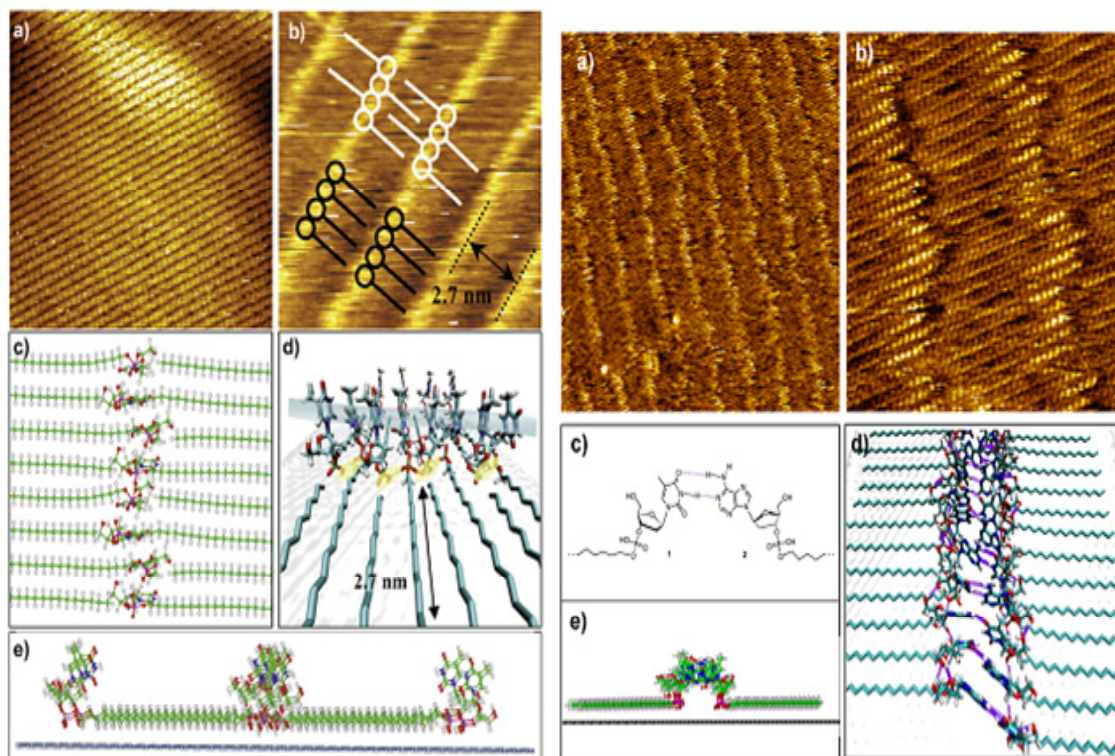


Abbildung 118: STM Bilder (a+b) und computergenerierte Modelle (c-f) der untersuchten 3'-Eicosylphosphatnucleoside (Bestel et al., 2008); links 3'-Eicosylphosphatthymidin auf HOPG; rechts 3'-Eicosylphosphatadenosin und 3'-Eicosylphosphatthymidin auf HOPG

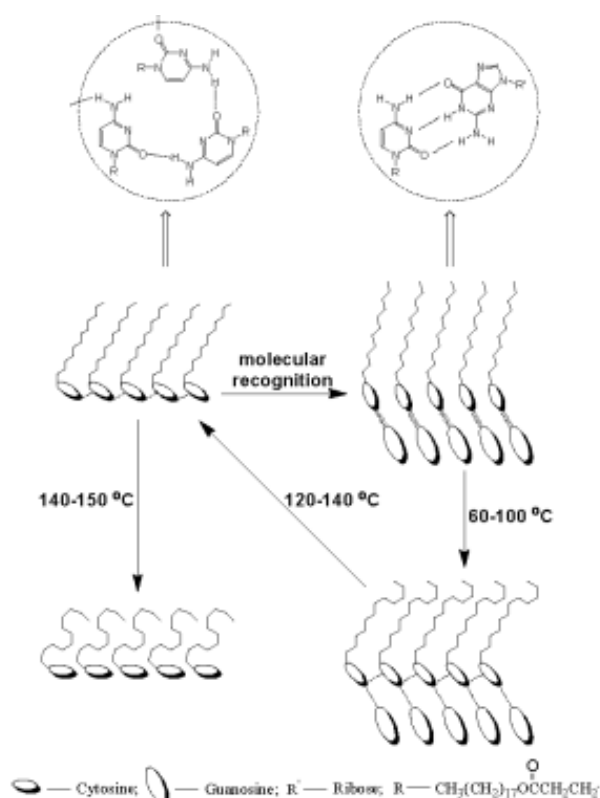


Abbildung 119: Schematische Darstellung der Wasserstoffbrücken und der Orientierung der Nukleobasen während der Übergangsphase vor und nach der molekularen Erkennung von Liang *et al.* (Miao *et al.*, 2003)

Ausgehend von diesen Arbeiten und den Beobachtungen während der Membraninkorporierung der von uns synthetisierten Nukleolipide, stellte sich nun die Frage, ob diese Substanzen auch selbst vesikelähnliche Strukturen oder Lipiddoppelschichten ausbilden können.

Dafür wurden unter anderem die vier über die Carbamatsynthese dargestellten Nukleolipide **51**, **68a**, **68b** und **68c** (s. Abs. 2.2) in einem Gemisch aus Dichlormethan und Methanol im Verhältnis 1:1 gelöst. Jeweils 10 μl der 0.08 mM-Lösungen wurden auf eine planare Glasoberfläche (Schott Nexterion® Glas B) getropft und das Lösungsmittel in einer Dichlormethan-Atmosphäre verdunstet. Anschließend wurden die Aufnahmen auf einen Nanosurf® Mobile S AFM gemessen (näheres dazu im experimentellen Teil). Dabei betrug die Raumtemperatur ungefähr 20-25 °C und die Luftfeuchtigkeit ungefähr 20-40%.

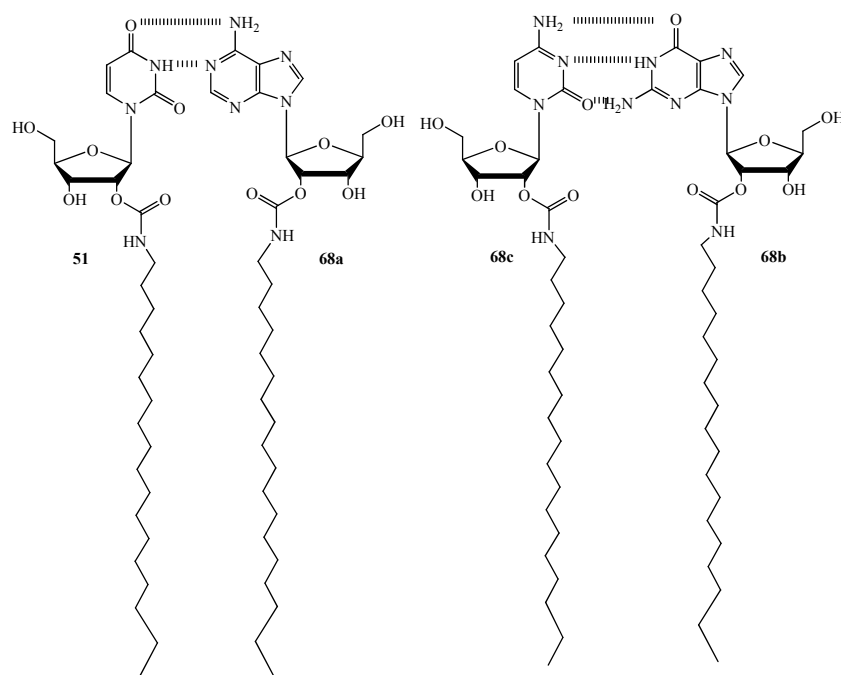


Abbildung 120: Struktur der untersuchten 2'-Stearoylcarbamoylnucleoside und deren Watson-Crick-Basenpaarungen

Die AFM-Messungen (s. Abb. 121 – 124) zeigten, dass diese Carbamte ungeordnete Kristallstrukturen ausbilden, welche nicht auf irgendwelche supramolekulare Eigenschaften zurückzuführen sind. Eine Möglichkeit für dieses Verhalten, kann entweder die geringe Löslichkeit solcher Carbamte in dem verwendeten Lösungsmittelgemisch sein oder auch die Tatsache, dass diese Substanzen nur einen Anker besitzen. Im Gegensatz dazu tragen die Nukleolipide in den literaturbekannten AFM-Messungen in allen Fällen zwei Anker. Dadurch scheint in diesem Fall der lipophile Charakter zu schwach zu sein, um supramolekulare Strukturen über einen hydrophoben Effekt auszubilden. Die AFM-Messung (s. Abb. 125 und Abb. 126) eines 1:1 Gemisches der komplementären Nukleolipide 51 und 68a bzw. 68b und 68c zeigte keine Veränderung gegenüber den Einzelmessungen.

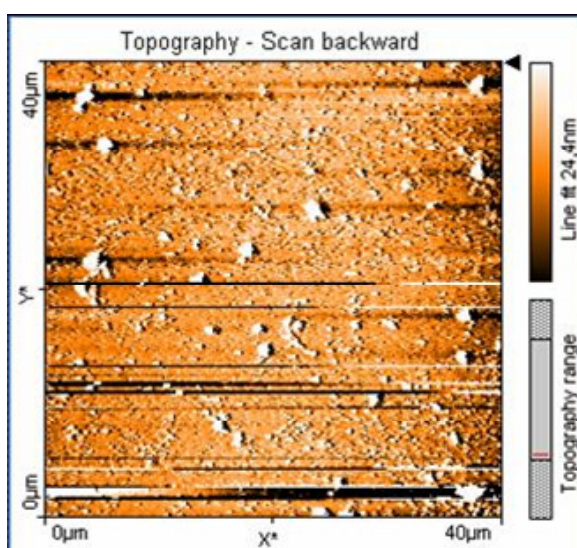


Abbildung 121: AFM- Aufnahme von **51**

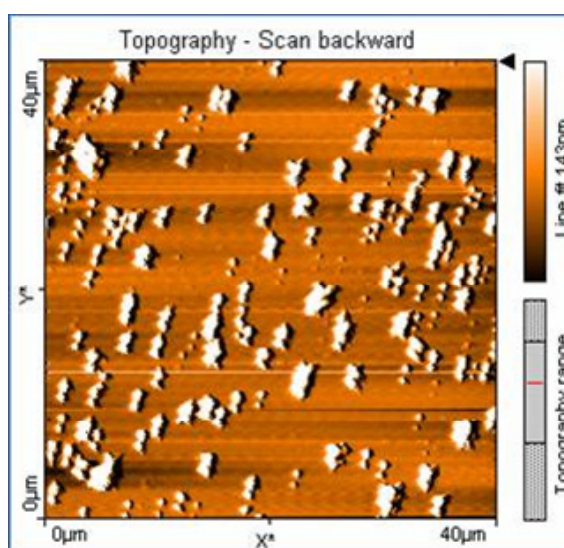


Abbildung 122: AFM- Aufnahme von **68a**

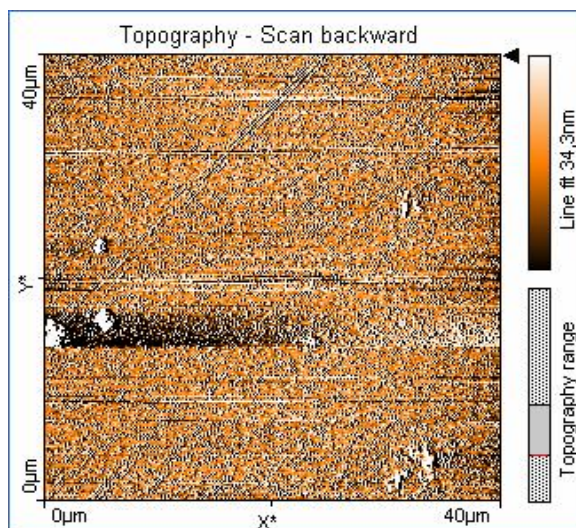


Abbildung 123: AFM- Aufnahme von **68b**

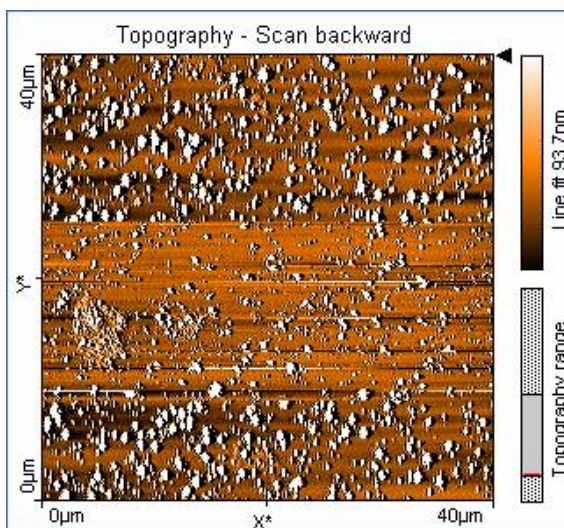


Abbildung 124: AFM- Aufnahme von **68c**

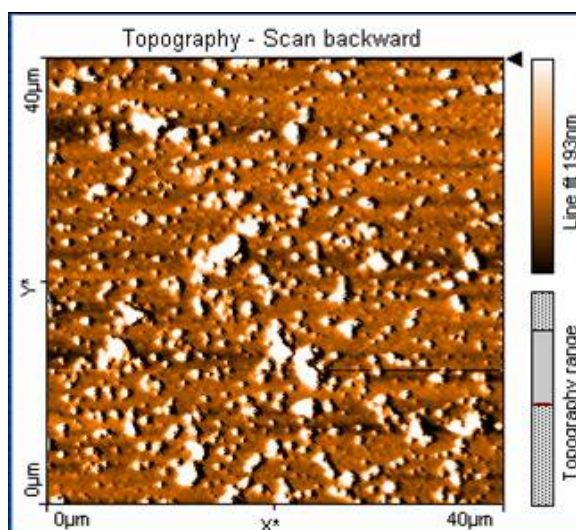


Abbildung 125: AFM- Aufnahme von **51 & 68a**

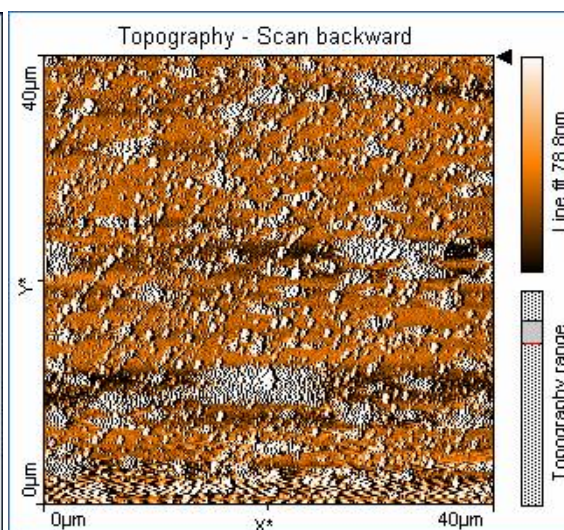


Abbildung 126: AFM- Aufnahme von **68b & 68c**

Um diese Annahme zu prüfen, wurden die Nukleolipide **22** und **31**, welche zwei Anker tragen, untersucht. Die Verbindungen wurden in Dichlormethan gelöst und 10 μl der 4×10^{-5} M Lösungen auf einen planaren Objektträger getropft. Nach der Verdunstung des Lösungsmittels in einer Dichlormethan-Atmosphäre erfolgte die Messung.

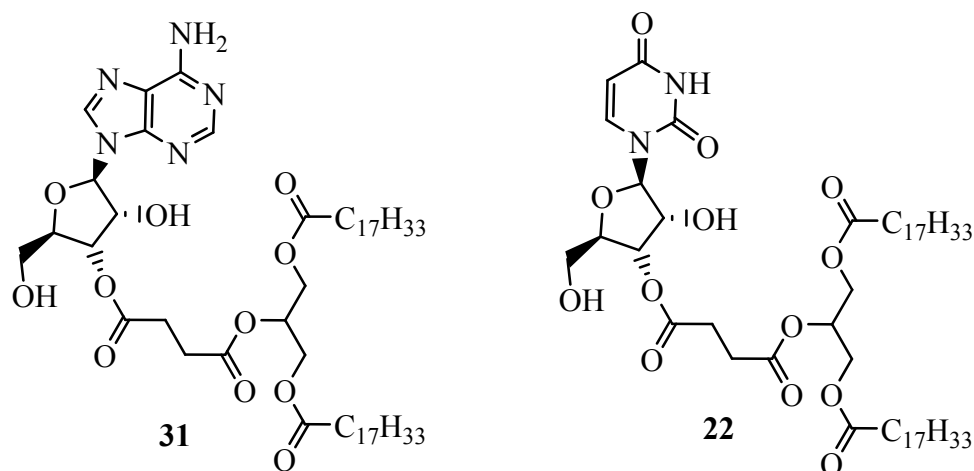


Abbildung 127: In den AFM-Messungen eingesetzte Nukleolipide **22** und **31**

An den Aufnahmen (s. Abb. 128 – 131) kann man die Ausbildung von vesikelähnlichen Strukturen, ähnlich denen von Castellano beobachten, erkennen. Dies wird besonders anhand der Darstellung eines Höhenprofils (blau Linie A – A') deutlich. Die schlechte Auflösung der Bilder beruht auf Störungen bei den Messungen (Artefaktbildung) und auch auf der Verwendung eines großen Cantilever-Tips von 100µm.

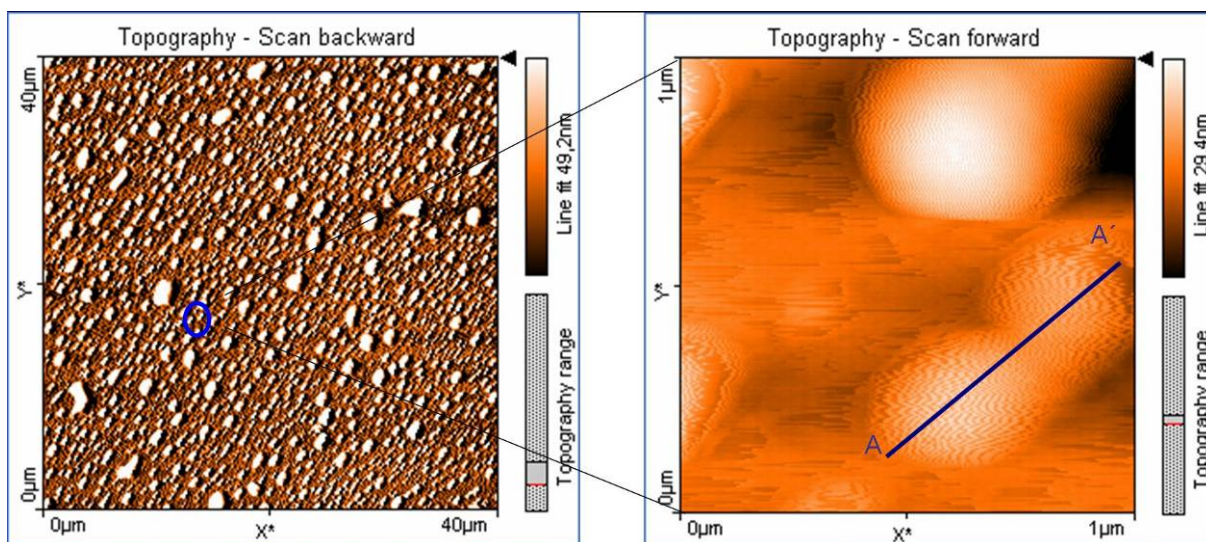


Abbildung 128: AFM-Aufnahme des Nukleolipides **22** bei 40x 40 µm² und eine Vergrößerung der vesikelähnlichen Struktur bei 1x1 µm²

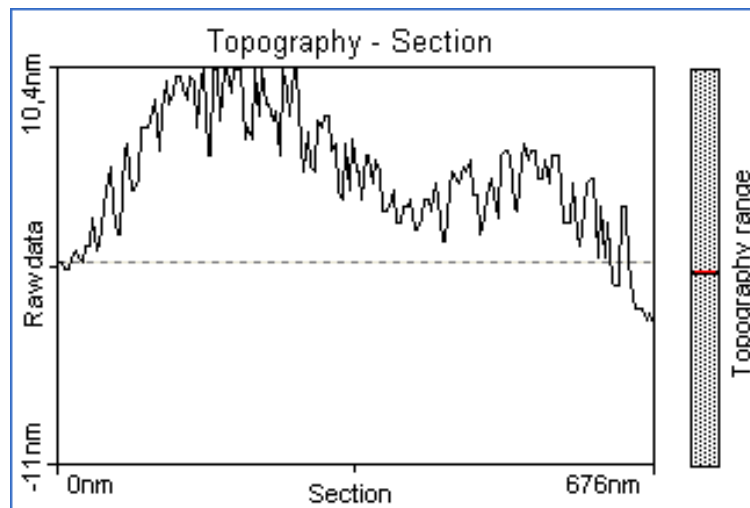


Abbildung 129: Querschnitt zwischen A und A' der AFM-Aufnahme des Nukleolipides **22**

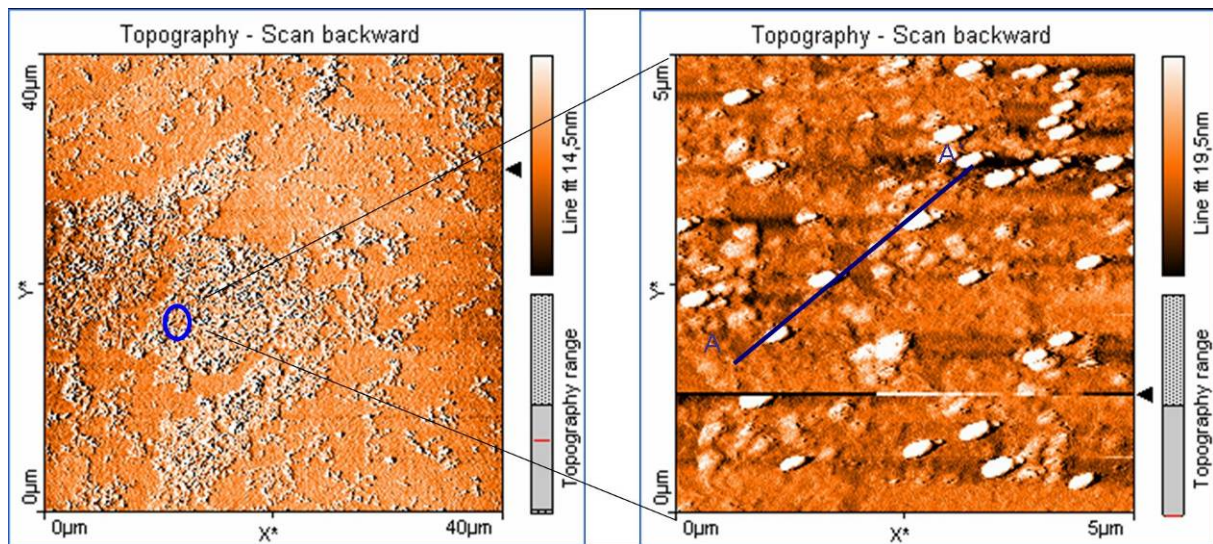


Abbildung 130: AFM-Aufnahme des Nukleolipides **31** bei $40 \times 40 \mu\text{m}^2$ und eine Vergrößerung der vesikelähnlichen Struktur bei $5 \times 5 \mu\text{m}^2$

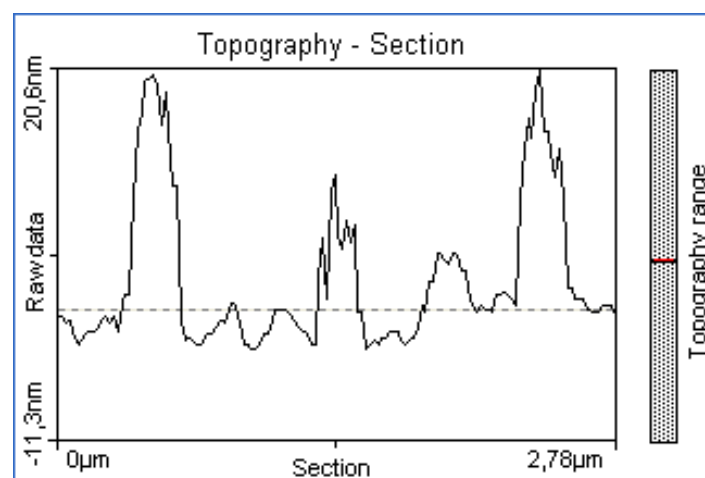


Abbildung 131: Querschnitt zwischen A und A' der AFM-Aufnahme des Nukleolipides **31**

Bei der Messung eines 1:1 Gemisches von **22** und **31** lässt sich anhand der Bestimmung eines Höhenprofils (s. Abb. 133) eine Vesikelattraktion vermuten, jedoch kann das nur ein erster Hinweis sein.

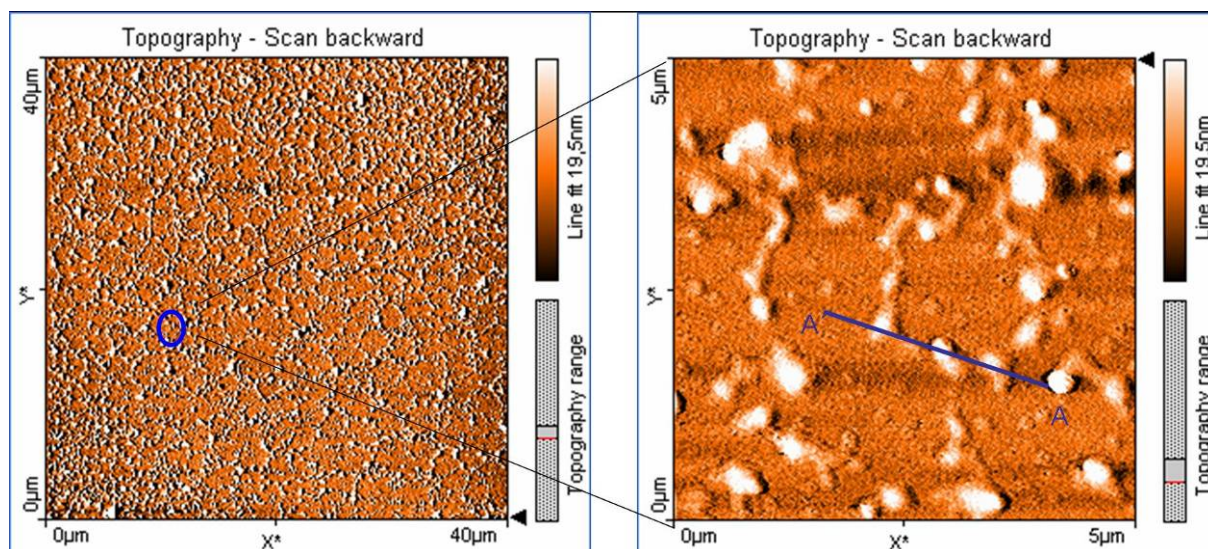


Abbildung 132: AFM-Aufnahmen des Gemisches der Nukleolipide **22** und **31** bei $40 \times 40 \mu\text{m}^2$ und eine Vergrößerung der Struktur bei $5 \times 5 \mu\text{m}^2$

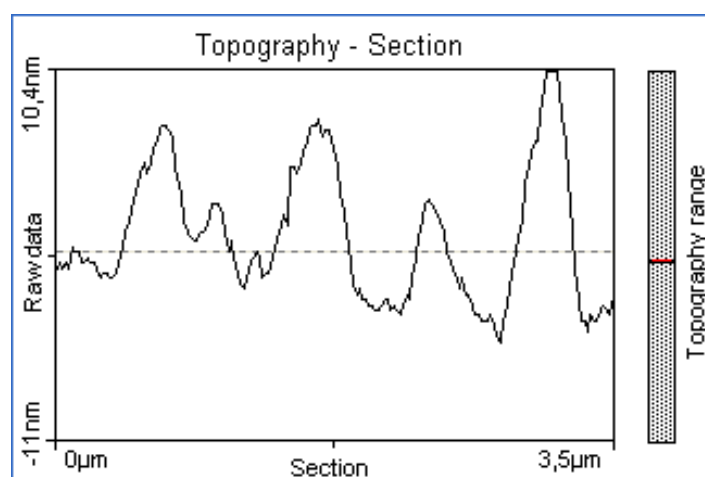


Abbildung 133: Querschnitt zwischen A und A' der AFM-Aufnahme des Gemisches der Nukleolipide **22/31**

Interessant sind die AFM – Bilder des Uridins **46**, das ebenfalls zwei lipophile Reste in der 2'-Position trägt. Die Probenpräparation erfolgte der Nukleolipide **22** und **31** entsprechend. Anhand der Aufnahmen erkennt man sehr deutlich die Ausbildung von Lipidschichten (s. Abb. 135), ähnlich den Arbeiten von Bagatolli. Auch diese Lipidschichten haben eine Höhe von ungefähr 5-6 nm, was für eine Lipidmonoschicht sprechen würde.

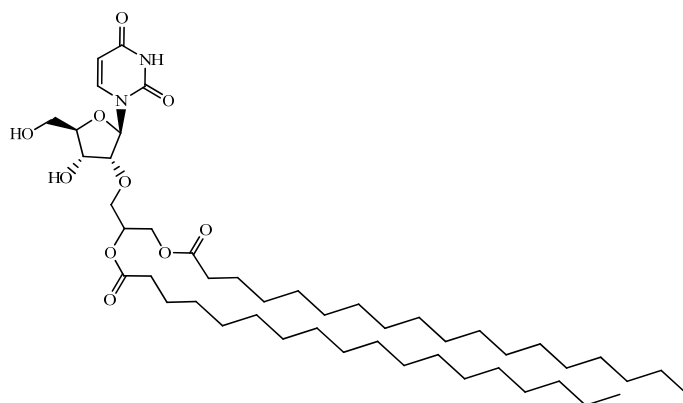


Abbildung 134: Struktur von **46**

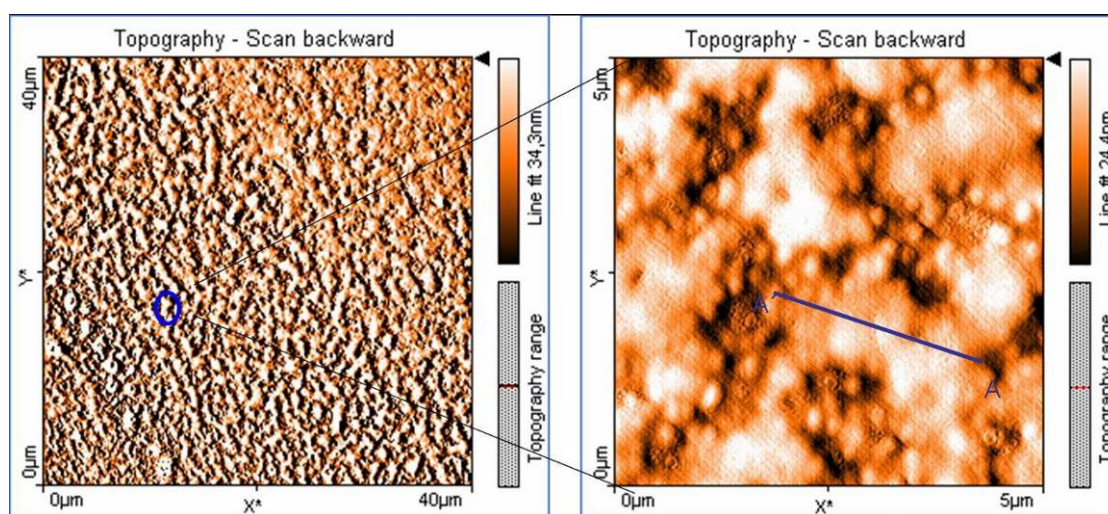


Abbildung 135: AFM–Aufnahme des Nukleolipides **46** bei 40x 40 μm^2 und eine Vergrößerung der markierten Stelle auf 5x5 μm^2

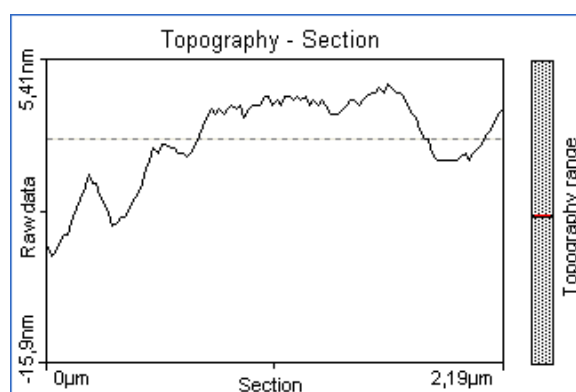


Abbildung 136: Querschnitt zwischen A und A' der AFM-Aufnahme des Nukleolipides **46**

Es konnte mittels AFM–Untersuchungen gezeigt werden, dass einige der synthetisierten Nukleolipide sowohl vesikelähnliche Strukturen, wie auch Lipidschichten ausbilden können. Arbeiten von Nicolai Brodersen, konnten weiterhin zeigen, dass Gemische aus komplementären lipophilen Nukleosiden oder lipophilen Nukleobasen in der Lage sind, Lipiddoppelschichten auszubilden, welche sich aus abwechselnden Basenpaarungen ergeben.

3 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden für NMR-spektroskopische und auch biophysikalische Untersuchungen während der Membraninkorporierung von Nukleolipiden und lipophilen Oligonukleotide, die nötigen Substanzen synthetisiert.

Um einen Eindruck zu gewinnen, welche Ankeranzahl für eine erfolgreiche Insertierung in Membranen sinnvoll ist und ob ein Spacer wichtig ist, damit der Anker nicht zu weit in die Membran hereinragt, wurden an Uridin ein oder mehrere Fettacylreste eingeführt, ohne dass diese Produkte später in eine Oligonukleotidsynthese einfließen sollten (s. Abb. 137). Hierzu wurde die $O3'$ - und die $O5'$ -Position des Uridins mit der zweizähligen Silylschutzgruppe TIPDSCI geschützt und anschließend die $O2'$ -Position mit Palmitinsäure verestert. Nach der Entfernung der Silylschutzgruppe mit Fluorid wurde jedoch infolge einer $2',3'$ -Acylwanderung ein Isomerenmisch 4/5 in 43% (über 3 Stufen) Ausbeute erhalten. Für die Anbringung zweier lipophiler Gruppen wurde das Uridin an der $O5'$ -Position mit DMTrCl geschützt und die freien Hydroxylgruppen mit Palmitinsäurechlorid verestert. Nach dem Entfernen der Schutzgruppe wurde der erwartete $2',3'$ -Diester 14 in 20% Ausbeute (über 3 Stufen) erhalten. Das Disuccinat 17 ließ sich analog durch Diacylierung mit Bernsteinsäureanhydrid und nachfolgender Veresterung mit Pentadecanol und abschließender Entschützung in 43% Ausbeute (über 4 Stufen) herstellen. Der Versuch, ausgehend vom $3',5'$ -geschützten Uridin durch Reaktion mit 4-(1,3Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure das $2'$ -Acylierungsprodukt 21 zugänglich zu machen, lieferte bei der Entschützung ausschließlich das umgelagerte $3'$ -Acylprodukt 22. Eine derartige Umlagerung konnte unterbunden werden, wenn der lipophile Rest in die $O2'$ -Position mittels einer Mitsunobureaktion eingeführt wird. Allerdings entsteht dabei das Arabinosederivat 8.

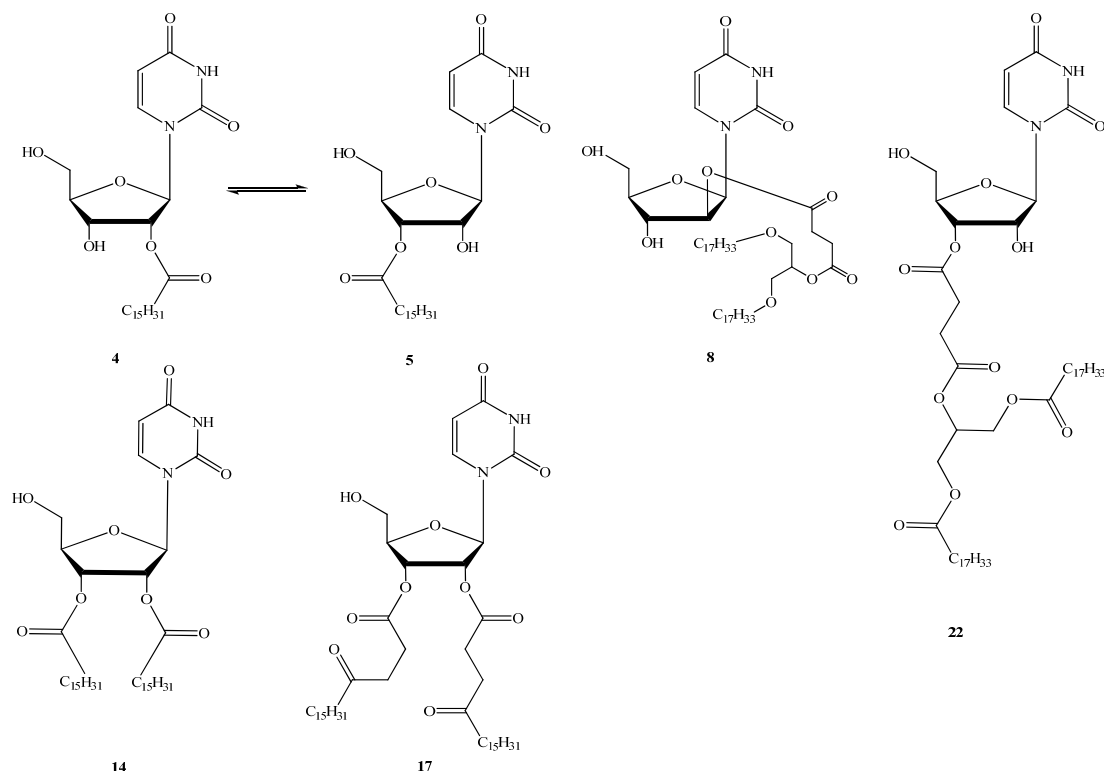


Abbildung 137: Lipidierte Uridine 4/5, 8, 14, 17 und 22 mit einem oder mehreren Lipidresten an der $O2'$ -Position

Anhand der Aufnahme von axialsymmetrischen ^{31}P -Pulverspektren ist durch die Inkorporierung der dargestellten Nukleolipide in die Membran keine Störung der Kopfgruppe zu erkennen. Die POPC-Membran bleibt in der lamellaren flüssig-kristallinen Phase. Messungen von ^2H -NMR-Spektren konnten weiterhin zeigen, dass sie weder die Packungseigenschaften der Membran noch deren Elastizität signifikant verändern. Mittels ^1H -NOESY-NMR-Spektroskopie unter MAS wurden durch das Auftragen der relativen Kreuzrelaxationsraten zwischen den eindeutig zuordenbaren Protonen des Nukleolipides (CH_5 , CH_6 und CH_1') und des Phospholipides (Cholingruppe, Glycerolgruppe, Doppelbindung im Oleoylrest) ermittelt, wie weit die Nukleolipide in die Membran ragen. Die Ergebnisse zeigen, dass Nukleolipide mit mehr als einen Alkylanker sehr tief in die Membran verankert sind und demzufolge nur für die Watson-Crick-Basenpaarung zur Verfügung stehen, wenn sie einen Spacer zwischen dem lipophilen Rest und der Ribose aufweisen.

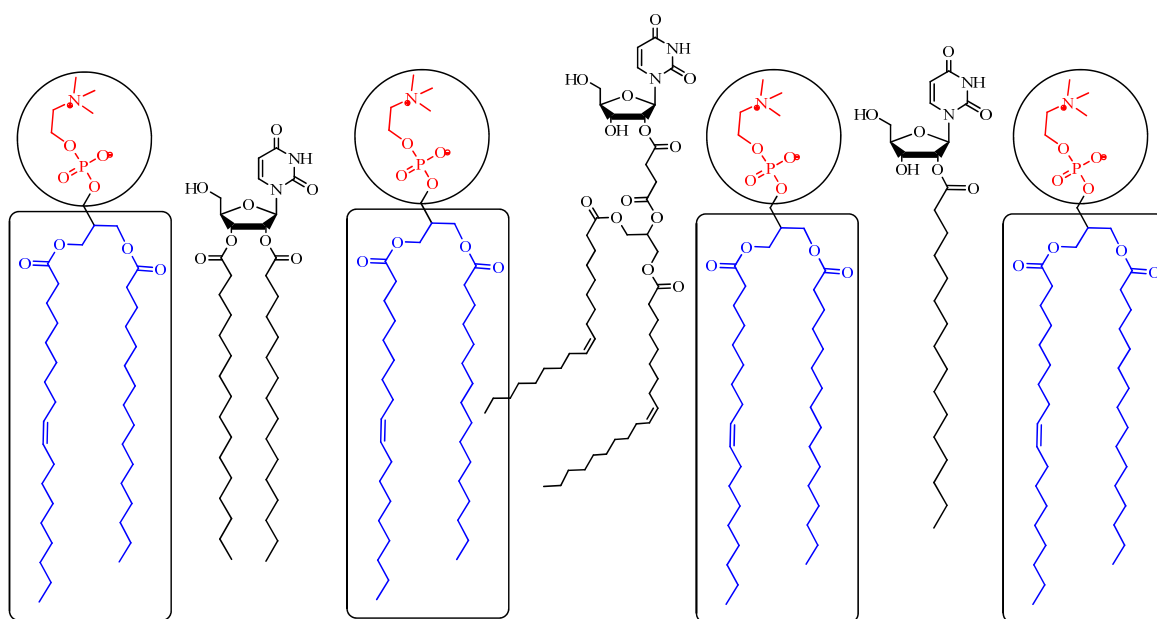


Abbildung 138: Schematische Tiefendarstellung der Nukleolipide **14**, **22** und **4/5** in einer POPC-Membran

Es stellte es sich heraus, dass das Nukleolipid **4/5** oberflächenaktiv ist und stabile Langmuir-Filme ausbilden können, obgleich Aggregation auftreten kann. Ebenfalls konnte ein Transfer auf Quartz in Form von LB-Filmen nachgewiesen werden. Das 2'-diacylierte Nukleolipid **22** ließ sich stabil in die Membran einbauen, was mittels Absorptionsmessungen nach einer Ultrazentrifugation von Saccharose-gefüllten LUVs bestimmt werden konnte. Konfokale Fluoreszenzmikroskopie-Untersuchungen an GUVs, LUVs oder MLVs aus POPC und NBD-PE zeigten jedoch, dass das in Membranen verankerte lipidierte Uridin **22** keine Bindung mit in Lösung befindlichem RhA20mer eingeht. Weiterhin konnte bisher keine Wechselwirkung zwischen Vesikeln nachgewiesen werden, welche zum einen **22** und POPC/NBD-PE enthielten und zum anderen ein komplementäres Nukleolipid und POPC/Rh-PE. Der Grund dafür könnte in einer zu tiefen Verankerung des komplementären lipidierten Adenosins **132** in der Membran liegen, da es den lipophilen Anker an der C8-Position des Adenins trägt und im Gegensatz zu **22** kaum eine Watson-Crick-Basenpaarung ausbilden kann. Um dies zu klären, wurde statt mit **132**, das POPC-LUV mit dem zu **22** analogen Adenosinderivat **31** inkubiert. Jenes wurde durch Veresterung eines $3',5'$ -geschützten Adenosins mit **6** und anschließende Entschützung in 10% Ausbeute (über 3 Stufen) erhalten. Die Ergebnisse zu diesen biophysikalischen Messungen stehen jedoch noch aus.

Um der 2',3'-Acylwanderung zu umgehen, wurden andere funktionelle Gruppen für die Verknüpfung des Lipidankers verwendet. So konnte das über eine 2'-Glyceroether verknüpfte Derivat **46** über 6 Stufen in Anlehnung an eine Verfahrensweise von Prakash *et al.* (Prakash *et al.*, 2002), ausgehend von O2,O2'-Anhydro-O5'-TBDPS-uridin **38** erhalten werden.

Ähnlich der Synthese von nichtlipophilen des O2'-Carbamoyluridinen (Korshun *et al.*, 2002) wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit alle vier Nukleolipide **51/68** mit einem Octadecylaminrest dargestellt. Dadurch eröffnet sich generell, auch für zukünftige Arbeiten, eine einfache Methode, um alle vier Nukleoside (Uridin (Thymidin), Adenosin, Guanosin, Cytidin) in ihre Nukleolipidanaloge zu überführen. Nach der Einführung der Schutzgruppe, der anschließenden Umsetzung des Nukleosides in einer Eintopfreaktion mit CDI und Octadecylamin wurden die entsprechenden Produkte nach der Entschützung in Ausbeuten zwischen 15 und 54 % (über 4 Stufen) erhalten. Dabei konnte keine Wanderung des Carbamatrestes von der O2'- auf die O3'- Position mittels NMR-Spektrum beobachtet werden.

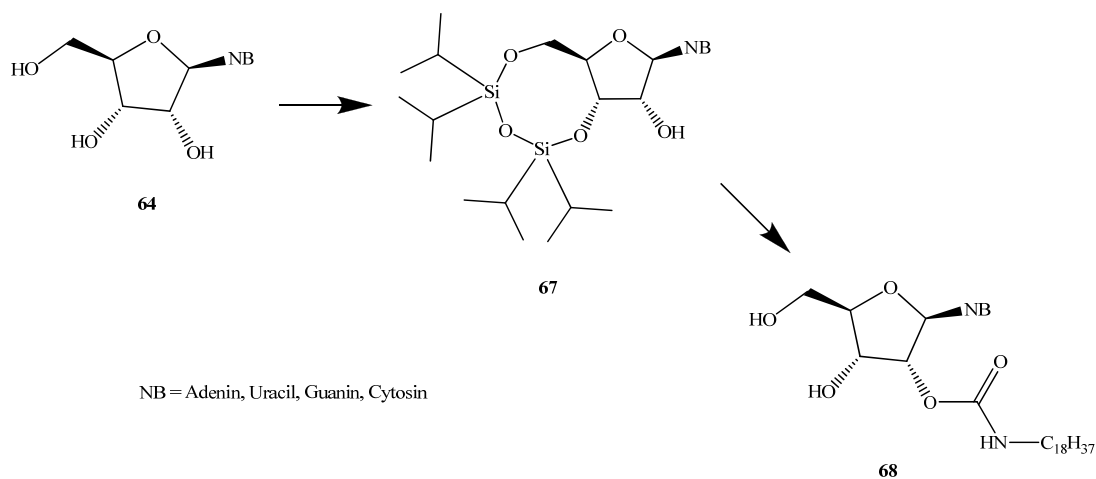


Abbildung 139: Synthese der O2'-Octadecylcarbamoylnukleoside

Zur Erforschung eines möglichen supramolekularen Verhaltens der lipidierten Nukleolipide wurden AFM-Untersuchungen auf Glasoberflächen durchgeführt. Es zeigte sich, dass diese Carbamate **68** keine besonderen Strukturen ausbilden. Dafür könnte die geringe Löslichkeit solcher Carbamate in dem verwendeten Lösungsmittelgemisch verantwortlich sein oder die Tatsache, dass diese Substanzen nur einen Anker tragen, im Gegensatz zu den literaturbekannten AFM-Messungen von Nukleolipiden, in denen zwei Lipidanker vorhanden sind. In der Tat ließ sich durch AFM-Untersuchungen an den zweifach lipidierten Vertretern **22** und **31** die Ausbildung von vesikelähnlichen Strukturen nachweisen. An einem anderen zweikettigen amphiphilen Nukleolipid **46** zeigte sich die Ausbildung von Lipidschichten.

Der Nachteil der Synthese von Carbamten liegt darin, dass keine sekundären Amine direkt eingesetzt werden können. Um dennoch Dialkylaminogruppen einzuführen wurden deshalb auf Amine zurückgegriffen, die einen primären Aminoethyllinker besitzen. So gelang die Umsetzung des O3',O5'-geschützten Uridins **20** mit dem N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** und anschließender Entschützung zu dem lipidierten Uridin **65** in 52% Ausbeute (über 3 Stufen).

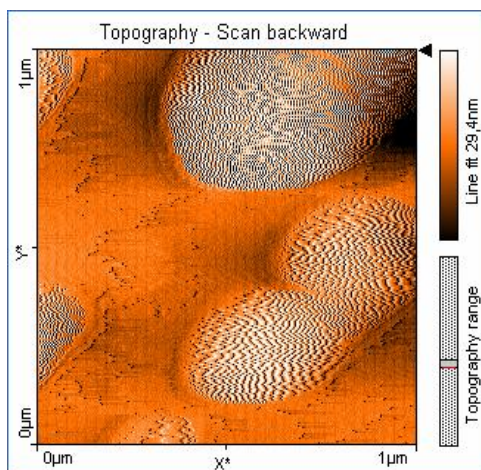


Abbildung 140: AFM-Aufnahme von **22**

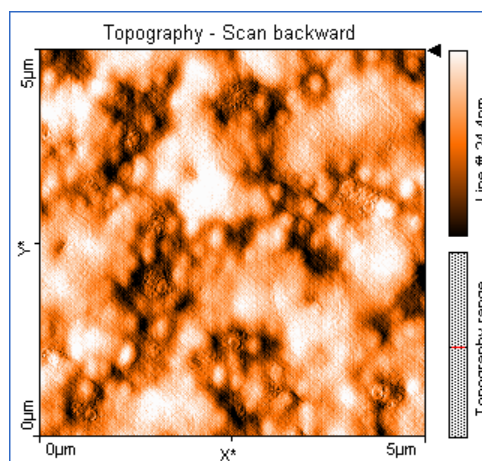


Abbildung 141: AFM-Aufnahme von **46**

O2, O2'- Anhydrouridin war aus der Literatur als ein guter Vorläufer für die Einführung verschiedener funktioneller Gruppen, wie Amino, Azido, Mercapto und Iod, in die 2'-Position, bekannt.

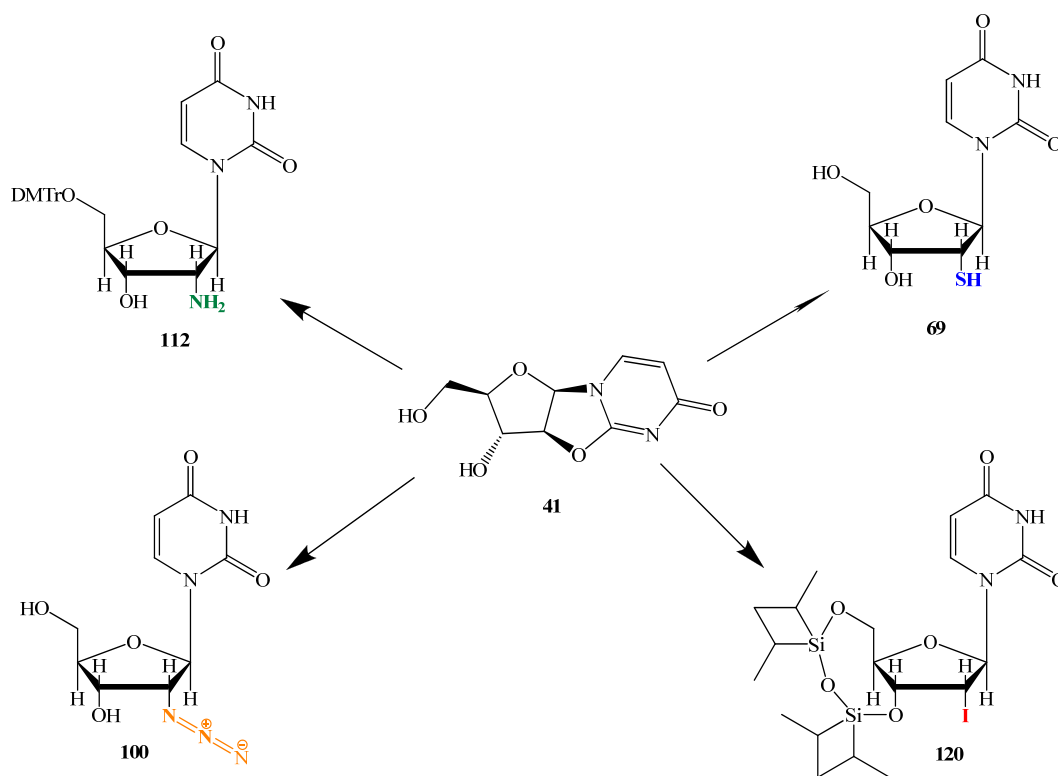


Abbildung 142: Funktionalisierungen der O2'- Position des Uridins ausgehend vom Anhydrouridin **41**

Wir stellten aus dem so zugänglichen 2'-Amino-2'-desoxyuridin **112** und Oleoylchlorid das entsprechende 2'-Oleoylaminoderivat her. Eine reduktive Aminierung zum Nonylaminoderivat gelang an **112** mit Nonanal in 90% Ausbeute, jedoch mit 2,3-Bis(octadecoxy)propanal lediglich in 12% Ausbeute.

Das 2'-Iod-Derivat **120** sollte mittels einer Kreuzkupplung in entsprechende 2'-C- α -alk(in)yluridine überführt werden. Entsprechende Versuche zu Kumada- und Suzuki-Kupplungen schlugen jedoch fehl, was auf den per se

problematischen aliphatischen Charakter dieses Substrates zurückgeführt werden kann. Es wurden lediglich Eliminierungsprodukte oder unumgesetzte Edukte erhalten.

Am 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** konnten erstmalig Cu-katalysierte Click-Reaktionen mit Dodecin bzw. Cholesterolpropargylether erzielt werden. Die besten Ausbeuten wurden mit 40 mol% Natriumascorbat und 20 mol% $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ als Katalysatorensystem erreicht. In den so erhaltenen Produkten ist der Lipidrest über einen 1,2,3-Triazollinker an der 2'-Position verknüpft.

Ein weiterer einfacher Zugang zu 2'-lipidierten Uridinen erfolgte über das 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69**. Durch basische Veretherung gelang es in moderaten bis guten Ausbeuten eine Reihe neuartiger 2'-Thioether darzustellen (s. Abb. 143). Alternativ ließen sich Lipidanker an der 2'-Position von 2'-Thio-2'-desoxyuridin auch über die DIAD- oder PTAD-(4-Phenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion) vermittelte Disulfid-Bildung einführen.

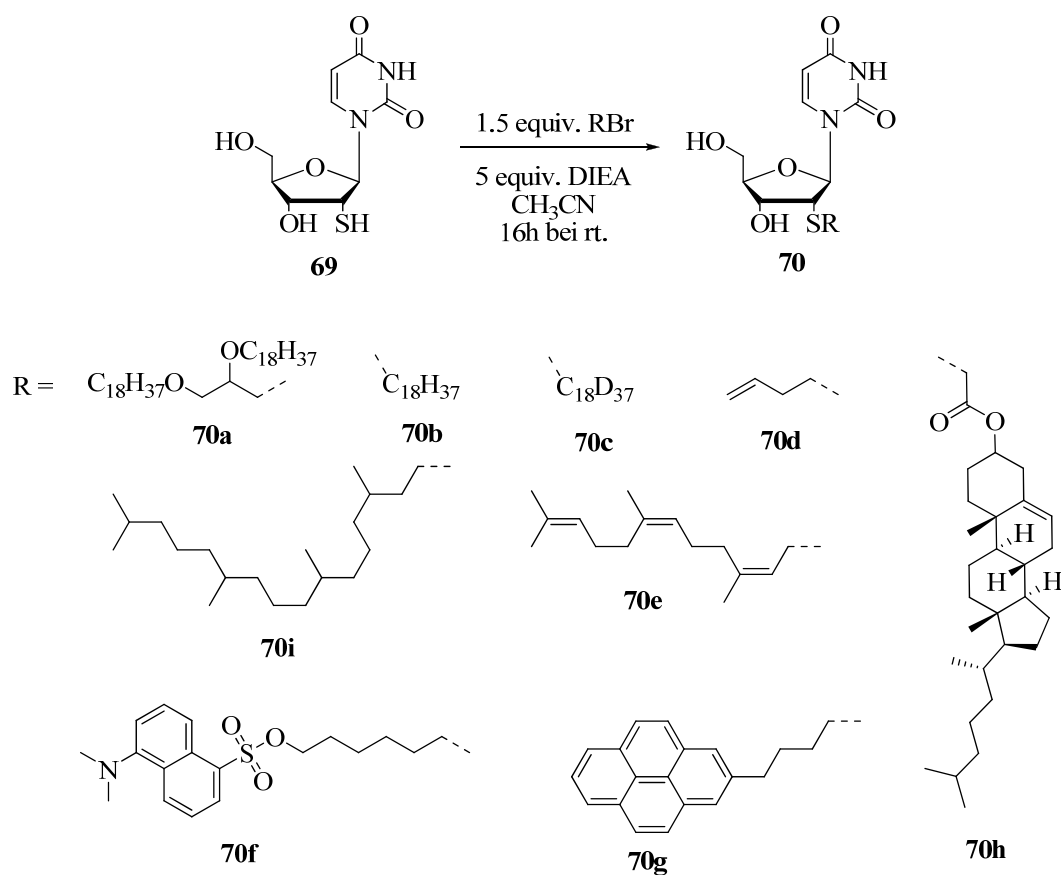


Abbildung 143: Synthese von neuartigen 2'-Thioether-2'-desoxyuridinen

Nun konnten durch die Verwendung unterschiedlichster Synthesestrategien und unterschiedlicher Funktionalisierungen an der O2'-Position eine Reihe neuer lipophiler Nukleoside dargestellt werden, von denen einige in Membranen verankern. Auch wurde gezeigt, dass einige der Nukleolipide supramolekulares Verhalten durch die Bildung von vesikelähnlichen Strukturen oder Lipidschichten in organischem Lösungsmittel aufweisen. Doch wie sieht es nun mit lipophilen Oligonukleotiden dieser Spezies aus? Verankern diese nun auch in Membranen und binden sie gar komplementäre Oligonukleotide? Um dieses Verhalten zu klären wurden einige der vorstehend aufgeführten Nukleoside in die Synthese von Oligonukleotiden einbezogen. Hierzu wurden diese 5'-DMTr-geschützt, in die 3'-Phosphoramidite überführt und anschließend im DNA-Synthesizer weiter umgesetzt.

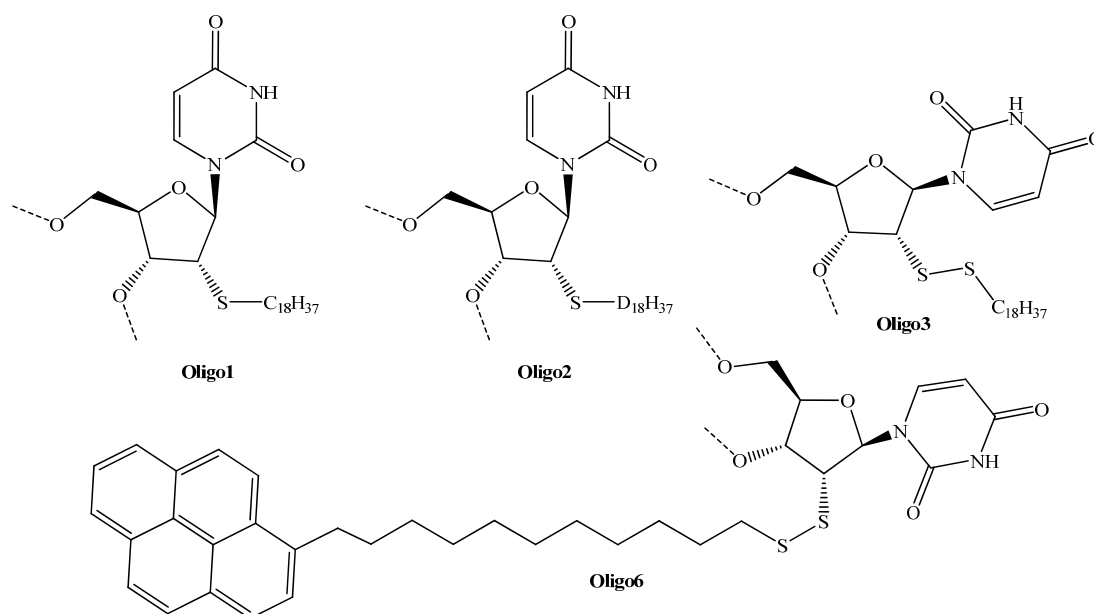


Abbildung 144: Eingesetzte 2'-lipidierte Nukleotide in den synthetisierten Oligonukleotiden

Es stellte es sich heraus, dass es bei der basischen Abspaltung des Oligonukleotides vom Harz zu einem Strangbruch der Disulfide kam. Die Oligonukleotidsynthese von **70b** zu **Oligo1** und **70c** zu **Oligo2** gelang dagegen ohne Probleme.

Die lipidierten Oligonukleotide wurden in Lipidmembranen (LUVs und GUVs) eingelagert und mit der NMR-Spektroskopie untersucht (^{31}P -Pulverspektren, ^2H -NMR-Spektren). Es zeigte sich, dass diese Einlagerung weder die Struktur (lamellar flüssig-kristallin) noch die Ordnung der Membran signifikant stören. Aus den ^{31}P -Spektrum des **Oligo2** erkennt man einen großen isotropen Peak, der für eine große Beweglichkeit des Oligonukleotides in der Membran spricht und demzufolge für eine schlechtere Insertierung, als bei der Verwendung von Oligonukleotiden mit einem Tocopherolanker an der 5-Position der Base. Mit Hilfe von DSC-Messungen wurde untersucht, ob in lipidierten Oligonukleotiden auch die Nukleoside, welche lipophile Reste tragen, eine Watson-Crick-Basenpaarung eingehen. Die Schmelztemperaturen der lipophilen Oligonukleotide und ihre komplementären Partner (A25) wurden zum einen in Lösung und zum anderen membranassoziiert gemessen. Dabei stellte es sich heraus, dass die lipophilen Oligonukleotide in Lösung mehr Basenpaarungen eingehen, als in der Membran, nämlich statt 17 sind es 19 Basenpaare, was dafür spricht, dass die lipidierten Nukleotide im Falle der Membranfixierung keine Basenpaarung eingehen. Außerdem wird deutlich, dass der Teil der DNA, der sich zwischen den lipidierten Nukleotiden befindet, nicht an der Doppelstrangbildung teilnimmt, wenn diese beiden Nukleotide (s. Abb. 145 für die Oligonukleotide **Oligo1b**, **Oligo 7** und **Oligo 8**) im Abstand von 7 Einheiten (weniger als eine Helixwindung) liegen.

Abschließend sei festzustellen dass es demnach bei Anwendung von Oligonukleotiden unbedeutend ist, wo der lipophile Rest am Nukleotid vorkommt, denn zum einen geht das entsprechende Nukleolipid selbst keine Basenpaarung ein und zum anderen erfolgt keine Basenpaarung über dieses hinweg.

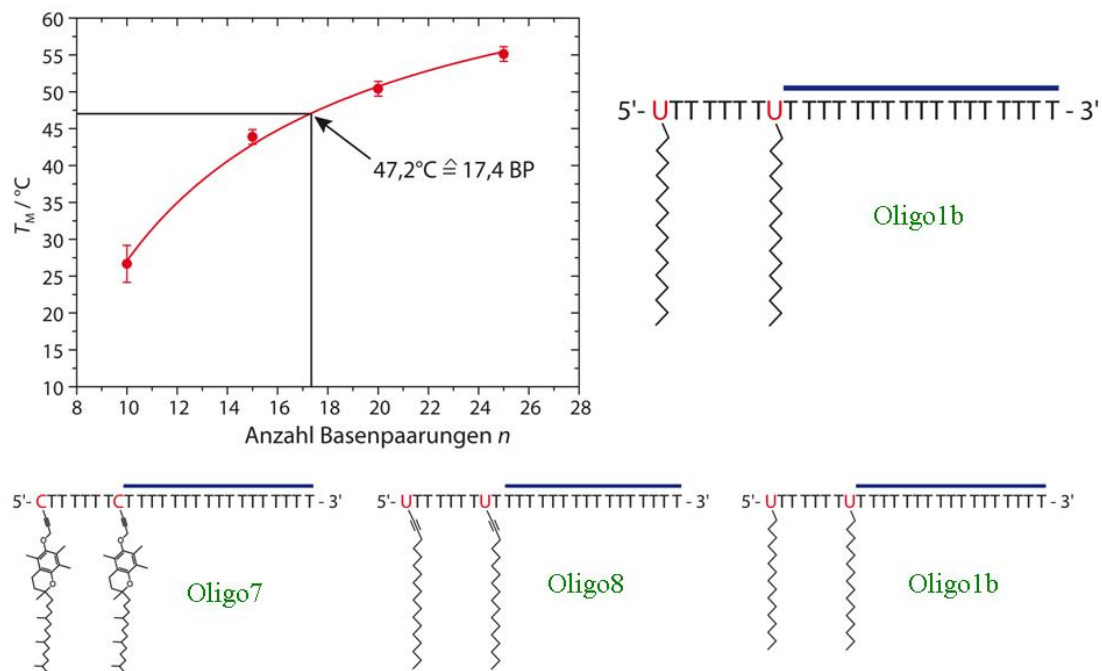


Abbildung 145: Darstellung der für die molekulare Erkennung komplementärer Nukleinsäuren aktiven Bereiche der membranassoziierten lipophilen Oligonukleotide **Oligo1b**, **Oligo 7** und **Oligo 8**. Der blaue Balken gibt den Teil der lipophilen Oligonukleotide an, der mit den komplementären Strängen eine Helix ausbilden kann

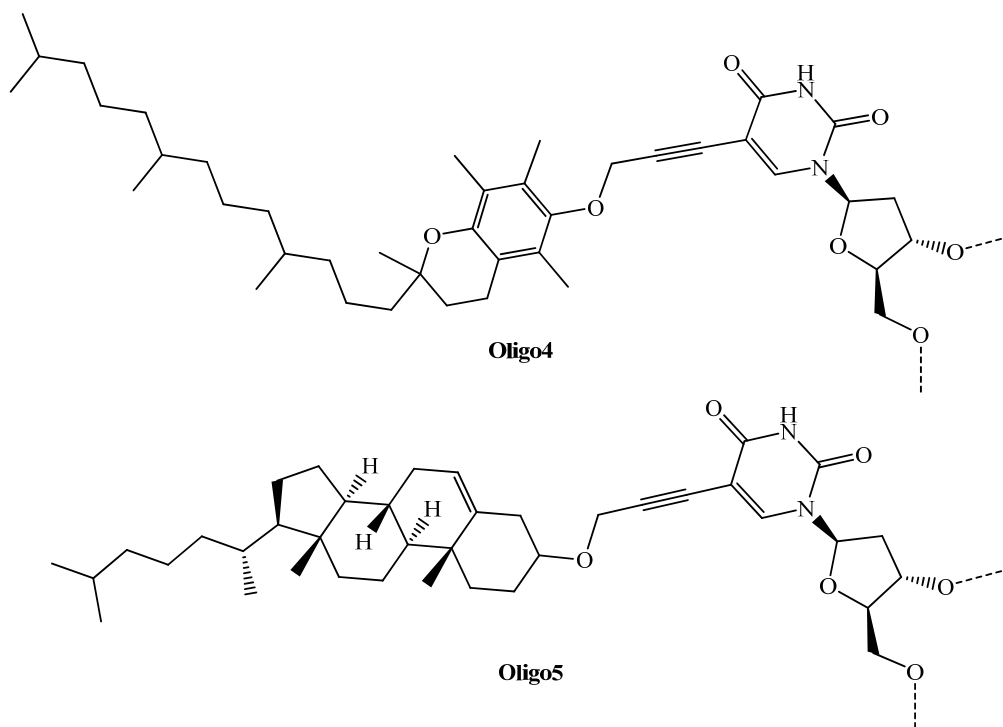


Abbildung 146: Eingesetzte Nukleotide mit basenständigem Anker in den synthetisierten Oligonukleotiden

Für biotechnologische Anwendungen konnte mit Hilfe dieser synthetisierten lipophilen Oligonukleotide gezeigt werden, dass zwei vesikelmembranverankerte Oligonukleotide, welche komplementäre Enden tragen, eine Doppelhelix miteinander bilden und so diese beiden Vesikel auf einen definierten Abstand halten können. Dazu wurde an einen LBL-Partikel kovalent ein A21mer verknüpft. Dieses konnte mit dem passenden Oligonukleotid **Oligo5a** (LT18), welches in einen LUV insertiert ist, eine Doppelhelix ausbilden. Der Nachweis erfolgte durch den Einsatz der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie und einer abbildenden Mikroskopie (DIC). Durch abwechselnder Verwendung von LT18-NBD-LUVs und LA17-Rh-LUVs (**Oligo9**) ließ sich die gezielte DNA-vermittelte Bildung mehrerer unterschiedlicher Vesikelschichten auf dem LBL-Partikel erzielen. Die einzelnen Schichten können getriggert (Mellitin) fusioniert werden, was für verschiedenste „drug-delivery“-Anwendungen von großem Interesse ist.

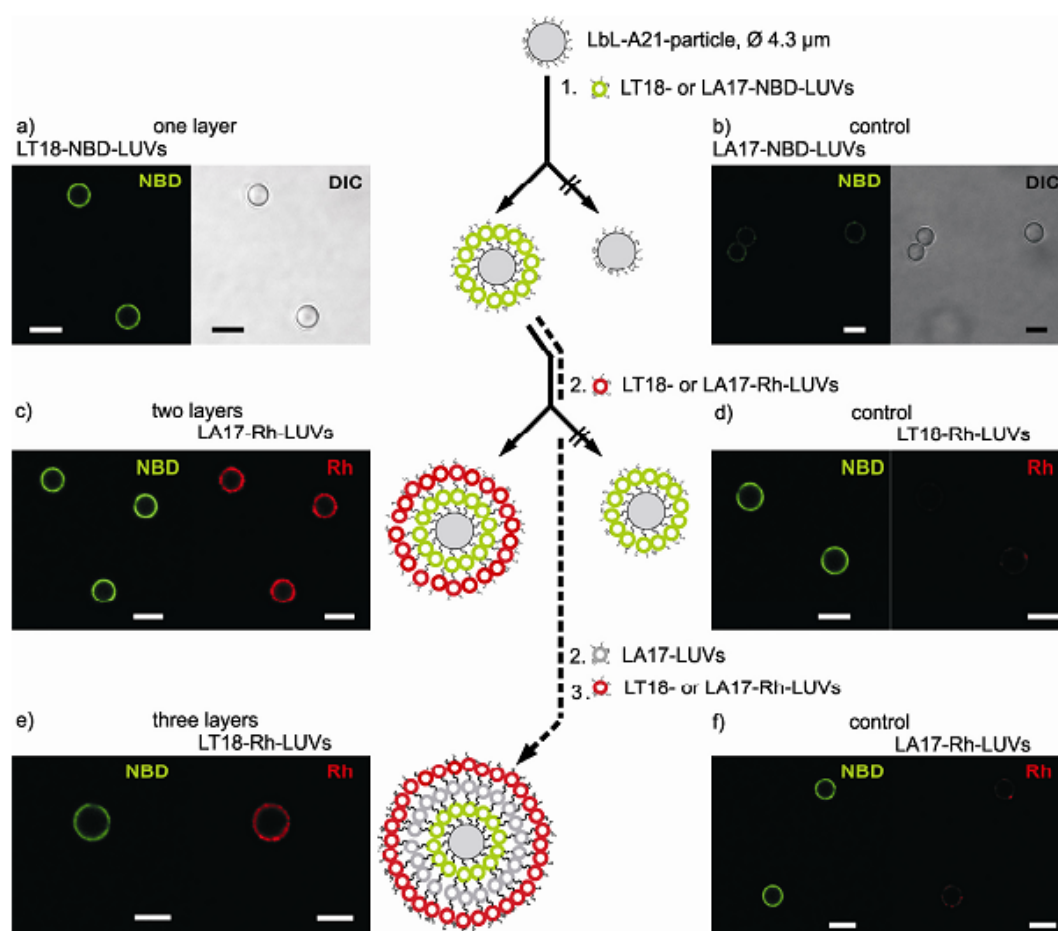


Abbildung 147: Beladen eines LBL-A21-Partikel mit LUVs, welche die membrangebundenen Oligonukleotide **Oligo5** und **Oligo9** enthalten

Abschließend lässt sich feststellen, dass es gelungen ist, eine Reihe neuer lipidierter Nukleoside und Oligonukleotide zu entwickeln, die den Lipidrest in den meisten Fällen an der 2'-Position tragen. Mit Hilfe dieser Verbindungen konnten wichtige Zusammenhänge zwischen der Struktur und den Eigenschaften (supramolekulare Eigenschaften, Membranverankerung, Ausbildung von Doppelsträngen) aufgedeckt und neuartige Anwendungen in der Nanobiotechnologie ermöglicht werden. Die Ergebnisse haben sich bisher in 3 Publikationen niedergeschlagen.

4 Experimenteller Teil

4.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Die Laborjournalnummern in den Versuchsvorschriften befinden sich in Klammern nach den Substanznummern.

Die Daten zu den Messungen der Kooperationspartner seien bitte den Veröffentlichungen oder deren Aufzeichnungen zu entnehmen.

Die analytischen Daten wurden mit folgenden Geräten aufgenommen:

Kernresonanzspektroskopie: Die NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern *AMX 300* bzw. *DPX 300* der Firma *Bruker* gemessen. ^1H -NMR-Spektren wurden bei 300 MHz und ^{13}C -Spektren bei 75 MHz aufgenommen. Als interner Standard diente Tetramethylsilan ($\delta = 0$ ppm). Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm und die Kopplungskonstanten J in Hz angegeben. Die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale wurde anhand der zugehörigen APT-Spektren getroffen. Die Interpretation der ^1H -NMR-Spektren basierte häufig auf ^1H - ^{13}C -COSY- sowie ^1H - ^1H -COSY-Experimenten. Zur Beschreibung der ^1H -NMR-Signale dienen folgende Abkürzungen: s - Singulett, d - Dublett, t - Triplet, q - Quadruplett, m - Multiplett. Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur aufgenommen.

Massenspektroskopie: Die hochaufgelösten EI-Massenspektren (EI-HRMS-Spektren) wurden mit einem Gerät der Firma *Varian (MAT 711)* bei 70 eV aufgenommen, die hochaufgelösten ESI-Massenspektren (ESI-HRMS-Spektren) an einem Finnigan LTQ FT-Massenspektrometer, Thermo Electron gemessen.

Elementaranalyse: Die Elementaranalysen wurden mit einem *Leco CHNS 932*-Analysator durchgeführt.

Röntgenstrukturanalyse: Die Bestimmung der Kristallstrukturen wurde an einem *IPDS-* bzw. *STADI-4* - Diffraktometer der Firma *STOE & Cie* durchgeführt. Die zugehörigen Daten finden sich im Anhang.

Rasterkraftmikroskop: Die AFM-Messungen fanden auf einen Nanosurf® Mobile S der Firma *Nanosurf* mit einen 110 μm Scankopf statt. Als Träger wurde *Schott Nexterion Glas B* (25 x 76.5 x 1 mm, ultrasonically cleaned, flatness ≤ 0.05 mm) verwendet. Die Messungen fanden im NCLR-Mode (*Tapping-Mode*) unter *Dynamic Force* statt. Die freie Vibrationsamplitude ist bei 200 mV und die Vibrationsfrequenz bei 170kHz eingestellt worden. Die Parameter des Z-Controllers wurde mit einen Set Point von 50%, einem P-Gain von 10000 und einem I-Gain von 1500 eingestellt. Als Auswertungssoftware wurde Nanosurf Mobile S verwendet.

Dünnschichtchromatographie: Es wurden Kieselgel-60-Aluminiumplatten mit UV-Fluoreszenzindikator F_{254} der Firma *Merck* verwendet. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht bzw. den folgenden Reagenz: Gemisch aus 1.0 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ und 2.5 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml 1.8 M H_2SO_4 .

Säulenchromatographie: Als stationäre Phase diente Kieselgel-60 (40 - 63 μm) der Firma *Merck*. Die verwendeten Eluenten wurden vor dem Gebrauch bei Bedarf destilliert.

HPLC: Für die analytische HPLC wurden die folgenden Geräte unter den angeführten Bedingungen eingesetzt. HPLC-Anlage *Waters 2695 Alliance*, Photodiode-Array-Detektor *996 (Waters)*, *ESI-MS-Detektor ZQ 2000 (Waters)*, RP-18-5 μm Säule (2.1 x 150 mm, *XTerra*), mobile Phase: Wasser : Acetonitril (0 : 100 bis 50 : 50), Fluss : 0.2 ml/min. Die HPLC-Lösungsmittel wurden von Firma *Baker* bezogen.

Schutzgastechnik: Als Schutzgas diente Argon 4.8 (Messer-Griesheim). Es wurde eine Wechselhahnanlage mit einer Vakuumpumpe (*Vakuumbraund*, ca. 18 mbar) verwendet. Die Reaktionsapparaturen wurden mit einem Heißluftfön im Vakuum ausgeheizt und unter Argon abgekühlt.

Lösungsmittel: Alle verwendeten Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer von höhersiedenden Verunreinigungen befreit. Lösungsmittel für feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden entweder ebenfalls käuflich erworben oder wie folgt behandelt. **THF** wurde mit KOH vorgetrocknet, zweimal über Natrium getrocknet und unmittelbar vor Gebrauch unter Argon von Natrium/Benzophenon abdestilliert. **CH₂Cl₂** wurde 3 Tage mit Phosphorpentoxid gekocht und anschließend unter Argon abdestilliert.

Verwendete Reagenzien: Chemikalien wurden von den Firmen *Acros*, *Aldrich*, *Fluka* und *Merck* bezogen. Alle kommerziell erhältlichen Reagenzien wurden, falls nichts anders angegeben, ohne weitere Reinigung verwendet.

4.2 Versuchsvorschriften

O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** (OK-106)

2.44 g (10.0 mmol) Uridin werden in 10 ml trockenem DMF in einem 50 ml Kolben gelöst und nach der Zugabe einer Lösung von 3.60 ml (11.0 mmol) DTBSTf in 3 ml trockenem DMF für etwa 4 min bei RT gerührt. Durch Quenchen des Reaktionsgemisches mit 10 ml Triethylamin, wobei sich die Lösung von hellgelb über orange nach rot färbt, wird die Reaktion beendet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (120 g Säule, CHCl₃/MeOH 100:1) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren 3.38 g eines farblosen Feststoffes (8.80 mmol, 88%).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 1.05 (s, 18H, CH₃), 3.92 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.01 (s, 1H, CH(C3')), 4.34 (s, 1H, CH(C4')), 4.40 (m, 1H, CH(C2')), 5.57 (s, 1H, CH(C1')), 5.78 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 7.74 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6)), 9.23 (NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 11.1 (C_q), 27.3 (CH₃), 64.0 (CH₂(C5')), 77.7 (CH(C3')), 81.8 (CH(C2')), 87.0 (CH(C4')), 93.3 (CH(C1')), 102.8 (C5), 141.3 (C6), 149.9 (C2), 163.1 (C4)

Schmelzpunkt: 211°C (Lit. 210°C-212°C)

O2'-(Palmitoyl)uridin **4** und O3'-(Palmitoyl)uridin **5** (OK-211)

500 mg (1.30 mmol) O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** werden bei 0°C in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 540 mg (1.95 mmol) Palmitoylchlorid und 40 mg DMAP rührt die Lösung für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt, der Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml Brine extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Der erhaltende hellbraune Feststoff wird ohne weitere Aufarbeitung weiterverwendet und in 20 ml MeOH gelöst. Nach der Zugabe von 1.00 g (27 mmol) NH₄F rührt das Reaktionsgemisch 16 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen 30 ml Dichlormethan und 30 ml Brine extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Man erhält nach der säulenchromatographischen Aufarbeitung (120 g Säule, CycH/EtOAc 2:1) 300 mg eines farblosen Feststoffes (0.64 mmol, 48% über zwei Stufen) als 2'/3'-Gemisch in einem Verhältnis von 4:9.

R_F-Wert = 0.17 (CycH/EtOAc 2:1)

¹H NMR des 2'-Produktes (CDCl₃) δ(ppm) = 0.78 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃), 1.20 (s, 26H, CH₂), 1.52 (t, 4H, J = 6.99 Hz, CH₂), 2.32 (m, 2H, CH₂-C(O)), 3.66 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.98 (m, 1H, CH (C4')), 4.32 (m, 1H, CH(C3')), 5.38 (s, 1H, CH(C2')), 5.62 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.88 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.76 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹H NMR des 3'-Produktes (CDCl₃) δ(ppm) = 0.78 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃), 1.20 (s, 26H, CH₂), 1.52 (t, 4H, J = 6.99 Hz, CH₂), 2.32 (m, 2H, CH₂-C(O)), 3.66 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.98 (m, 1H, CH (C4')), 4.50 (m, 1H, CH(C2')), 5.06 (s, 1H, CH(C3')), 5.64 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.78 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.80 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 13.9 (CH_3), 22.5- 33.9 (CH_2), 60.5 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 72.6 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 83.4 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 84.9 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 88.1 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.5 ($\text{C}5$), 141.1 ($\text{C}6$) 151.1 ($\text{C}2$), 164.1 ($\text{C}4$), 171.7 ($\text{C}(\text{O})\text{O}$)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-ditertbutyl-6-(arabinouridin)dioxasilin-7-ylsuccinat **7** (OK-164)

650 mg (0.90 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 230 mg (0.90 mmol) Triphenylphosphan und 290 mg (0.75 mmol) $O3',O5'$ -(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** werden in 5 ml trockenem THF in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Die Lösung wird auf 0°C abgekühlt und nach der Zugabe von 1.40 ml (0.95 mmol) DIAD für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 1:1) 510 mg eines farblosen Feststoffes (0.46 mmol, 62 %).

R_F -Wert = 0.60 (CycH/EtOAc 1:1)

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0.88 (t, 3H, J = 6.4 Hz, CH_3), 1.12 (s, 18H, CH_3), 1.27 (m, 32H, CH_2), 1.58 (m, 2H, CH_2), 2.00 (d, 8H, J = 8.9 Hz, CH_2), 2.32 (t, 4H, J = 12 Hz, CH_2), 2.73 (m, 4H, CH_2), 3.91 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 4.20 (m, 4H, CH_2), 4.28 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.64 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.24 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 5.33 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.36 (m, 1H, CH), 5.73 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}1')$), 5.83 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{C}(\text{C}5)$), 7.83 (d, J = 8 Hz, 1H, $\text{C}(\text{C}6)$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.0 (CH_3), 19.8 (CHSi), 22.6 - 31.8 (CH_2), 34.0 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 38.1 (CH_2), 61.7 (OCH_2), 69.7 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 72.9 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 73.6 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 83.5 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 90.6 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.6 ($\text{C}5$), 129.7 ($\text{CH}=\text{CH}$), 129.9 ($\text{CH}=\text{CH}$), 141.6 ($\text{C}6$), 150.9 ($\text{C}2$), 163.6($\text{C}4$), 171.6 ($\text{C}(\text{O})$), 171.7 ($\text{C}(\text{O})$), 172.0 ($\text{C}(\text{O})$), 173.4 ($\text{C}(\text{O})$)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-6-(arabinouridin)succinat **8** (OK-168)

450 mg (0.41 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-ditertbutyl-6-(arabinouridin)-dioxasilin-7-ylsuccinat **7** und 2.00 g NH_4F werden in 30 ml MeOH in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur rührt, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach säulenchromatographischer Reinigung (CycH/EtOAc 1:1) 70 mg eines farblosen Feststoffes (0.07 mmol, 6 %).

^1H NMR (CDCl_3) δ = 0.88 (t, 3H, J = 6.4 Hz, CH_3), 1.27 (m, 32H, CH_2), 1.58 (m, 2H, CH_2), 2.00 (m, 8H, CH_2), 2.32 (m, 4H, CH_2), 2.69 (m, 4H, CH_2), 4.17 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 4.27 (m, 4H, CH_2), 4.39 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.64 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.21 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 5.33 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.36 (m, 1H, CH), 5.73 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}1')$), 5.83 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{C}(\text{C}5)$), 7.83 (d, J = 8 Hz, 1H, $\text{C}(\text{C}6)$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.0 (CH_3), 21.9 - 31.8 (CH_2), 34.0 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 38.7 (CH_2), 61.7 (OCH_2), 69.9 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 74.7 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 76.7 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 81.9 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 90.8 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.6 ($\text{C}5$), 129.7 ($\text{CH}=\text{CH}$), 130.0 ($\text{CH}=\text{CH}$), 140.0 ($\text{C}6$), 151.0 ($\text{C}2$), 163.6($\text{C}4$), 171.6 ($\text{C}(\text{O})$), 171.8 ($\text{C}(\text{O})$), 173.4 ($\text{C}(\text{O})$)

1,3-Dihydroxypropan-2-on-1,3-dioleat **10** (OK-119)

3.00 g (33.3 mmol) Dihydroxyacetone werden in 150 ml trockenem Dichlormethan unter Argonatmosphäre suspendiert. Zu dieser heterogenen Mischung fügt man 22.0 ml (107 mmol) Ölsäurechlorid, welches in 150 ml trockenem Dichlormethan gelöst ist, und 10 ml trockenes Pyridin. Nach etwa 45 min klärt die Suspension auf und nach weiteren 90 min beendet man die Reaktion durch Zugabe von 1.50 ml Methanol. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 50 ml Dichlormethan gelöst und dreimal mit je 20 ml Wasser extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 , filtriert man den Feststoff ab und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Man erhält nach dem Umkristallisieren in 100 ml Methanol 17.1 g (26.9 mmol, 81 %) eines farblosen Waxes

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.1 Hz, CH_3), 1.26 (s, 40H, CH_2), 1.65 (t, 4H, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)O}$), 1.99 (m, 8H, CH_2), 2.41 (t, 4H, J = 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-C(O)O}$), 4.7 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-C(O)}$), 5.33 (m, 4H, CH=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.6 - 31.8 (CH_2), 33.67 ($\text{CH}_2\text{-OC(O)}$), 66.1 (OCH_2), 129.7 (CH=CH), 129.9 (CH=CH), 172.9 (C(O)O), 198.1 (C=O)

1,2,3-Trihydroxypropan-1,3-dioleat **11** (OK-121)

3.00 g (4.70 mmol) 1,3-Dihydroxypropan-2-on-1,3-dioleat **10** werden in 45 ml THF und 3 ml Wasser in einem 100 ml Einhalskolben gelöst. Die Lösung wird mittels eines Eisbades auf 4°C abgekühlt und nach der Zugabe von 300 mg (5.00 mmol) NaBH_4 rührt die Reaktionsmischung für eine Stunde. Anschließend wird mit 1.00 ml Eisessig gequenchet und das Gemisch zwischen 10 ml gesättigter NaHCO_3 -Lösung und 50 ml Chloroform extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (300 g Säule, CycH/EtOAc 75:25) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 2.90 g eines farblosen Öles, welches im Kühlschrank erstarrt (4.50 mmol, 92%).

R_F -Wert = 0.71 (CycH/EtOAc 75:25)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.1 Hz, CH_3), 1.26 (s, 40H, CH_2), 1.62 (t, 4H, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)O}$), 2.00 (m, 8H, CH_2), 2.33 (t, 4H, J = 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-C(O)O}$), 4.09 (s, 1H, CH-OH), 4.2 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-C(O)}$), 5.33 (m, 4H, CH=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.6 - 31.8 (CH_2), 34.0 ($\text{CH}_2\text{-OC(O)}$), 64.9 (OCH_2), 68.2 (CH-OH), 129.7 (CH=CH), 129.9 (CH=CH), 173.8 (C(O)O)

4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl)-4-oxobutansäure **6** (OK-122)

2.50 g (4.00 mmol) 1,2,3-Trihydroxypropan-1,3-dioleat **11**, 600 mg (8.00 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 30 mg DMAP werden in 10 ml trockenem Dichlormethan in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 0.35 ml trockenem Pyridin rührt die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur. Anschließend wird die Lösung mit 10 ml einer 0.1 N HCl-Lösung ausgeschüttelt. Nach dem

Trocknen der organischen Phase mit MgSO_4 wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält 2.65 g eines leicht gelblichen, zähflüssigen Öles, welches im Kühlschrank fest wird (3.60 mmol, 90 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.1 Hz, CH_3), 1.26 (s, 40H, CH_2), 1.59 (t, 4H, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)O}$), 2.00 (m, 8H, CH_2), 2.31 (t, 4H, J = 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-C(O)O}$), 2.64 (s, 4H, $\text{C(O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)}$), 4.2 (m, 4H, CH_2), 5.31 (m, 1H, CHOH), , 5.33 (m, 4H, CH=CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.6 - 31.8 (CH_2), 34.0 ($\text{CH}_2\text{-OC(O)}$), 65.0 (OCH_2), 68.3 (CHOH), 129.7 (CH=CH), 130.0 (CH=CH), 173.3 (C(O)O), 173.9 (C(O)O), 187.6 (C(O)OH)

05'-(4,4'-Dimethoxytrityl)uridin **12** (OK-205)

1.79 g (7.32 mmol) Uridin werden in 20 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach Zugabe von 2.72 g (8.04 mmol) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid und 180 mg DMAP rührt die orange Suspension über Nacht bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (500g Säule, EtOAc/ MeOH 9:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 3.64 g eines farblosen Feststoffes (6.66 mmol, 91%).

R_F -Wert = 0.66 (EtOAc/MeOH 9:1 mit 1% Et_3N)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 3.55 (m, 2H, CH_2 ($\text{C5}'$)), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 4.23 (m, 1H, CH ($\text{C4}'$)), 4.50 (m, 1H, CH ($\text{C3}'$)), 5.28 (s, 1H, CH ($\text{C2}'$)), 5.34 (d, 1H, J = 8 Hz, CH (C5)), 6.38 (d, 1H, J = 9 Hz, CH ($\text{C1}'$)), 6.84 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.18 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.80 (d, 1H, J = 8 Hz, CH (C6)), 9.08 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 55.2 (OCH_3), 62.2 (CH_2 ($\text{C5}'$)), 81.3 (CH ($\text{C4}'$)), 83.7 (CH ($\text{C3}'$)), 86.9 (CH ($\text{C2}'$)), 90.6 (CH ($\text{C1}'$)), 102.6 (C5), 113.1 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 129.1 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 139.4 (C_{arom}), 144.0 (C6), 147.3 (C_{arom}), 150.2 (C2) 158.5 (COCH_3), 163.3 (C4)

02',03'-(Dipalmitoyl)-05'-(4, 4'-dimethoxytrityl)uridin **13** (OK-206)

1.10 g (2.00 mmol) 05'-(4,4'-Dimethoxytrityl)uridin **12** werden bei 0°C in 25 ml trockenem Pyridin in einem 50 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.65 g (6.00 mmol) Palmitoylchlorid und 30 mg DMAP rührt die Lösung für 2 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre (DC-Kontrolle). Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt, der Rückstand zwischen 100 ml Diethylether und 50 ml Brine extrahiert und die organische Phase über MgSO_4 getrocknet. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (300g Säule, CycH/EtOAc 3:1 mit 1% Et_3N) 1.66 g eines farblosen Feststoffes (1.66 mmol, 81%).

R_F -Wert = 0.66 (CycH/EtOAc 3:1 mit 1% Et_3N)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm) = 0.90 (t, 6H, J = 6 Hz, CH_3), 1.13 (s, 42H, CH_2), 1.63 (t, 4H, J = 6.99 Hz, CH_2), 2.36 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-C(O)}$), 3.50 (s, 2H, CH_2 ($\text{C5}'$)), 3.80 (s, 6H, OCH_3), 4.25 (m, 1H, CH ($\text{C4}'$)), 4.50 (m, 1H,

CH(C3')), 5.28 (s, 1H, CH(C2')), 5.34 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.25 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 6.84 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.18 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.76 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 9.02 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.2 (CH₃), 22.7- 33.9 (CH₂), 55.2 (OCH₃), 60.4 (CH₂(C5')), 72.8 (CH(C4')), 82.2 (CH(C3')), 85.6 (CH(C2')), 87.6 (CH(C1')), 102.9 (C5), 113.7 (CH_{arom}), 127.0 (CH_{arom}), 129.1 (CH_{arom}), 130.2 (CH_{arom}), 139.9 (C_{arom}), 143.8 (C6), 147.3 (C_{arom}), 150.4 (C2) 159.5 (COCH₃), 164.2 (C4), 172.9 (C(O)O)

O2',O3'-(Dipalmitoyl)uridin **14** (OK-210)

1.66 g (1.66 mmol) O2',O3'-(Dipalmitoyl)-O5'-(4, 4'-dimethoxytrityl)uridin **13** werden in 15 ml einer 80% Essigsäurelösung in einen 50 ml Einhalskolben gelöst. Nach dem diese für 15 h bei Raumtemperatur rührt, extrahiert man das Reaktionsgemisch vorsichtig zwischen 250 ml Dichlormethan und 100 ml einer gesättigten NaHCO₃-Lösung. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 2:1) 310 mg eines farblosen Feststoffes (0.43 mmol, 26%).

R_F-Wert = 0.27 (CycH/EtOAc 2:1)

¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) 0.80 (t, 6H, J = 6 Hz, CH₃), 1.18 (s, 42H, CH₂), 1.54 (t, 4H, J = 6.99 Hz, CH₂), 2.32 (m, 4H, CH₂C(O)), 3.85 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.12 (m, 1H, CH(C4')), 5.41 (s, 2H, CH(C2'),CH(C3')), 5.79 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 5.99 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.68 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 9.11 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.2 (CH₃), 22.7- 34.0 (CH₂), 61.8 (CH₂(C5')), 72.9 (CH(C4')), 83.6 (CH(C3')), 85.6 (CH(C2')), 87.7 (CH(C1')), 103.2 (C5), 150.4 (C2), 163.2 (C4), 172.9 (C(O)O), 172.5 (C(O)O)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₁H₇₃N₂O₈ gef.: 721.5359

ber.: 721.5361

O2',O3'-(Disuccinyl)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **15** (OK-207)

1.10 g (2.00 mmol) O5'-(4,4'-Dimethoxytrityl)uridin **12**, 600 mg (6.00 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 30 mg DMAP werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nachdem die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur rührt, wird sie mit 10 ml einer 0.1 N HCl-Lösung ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält 1.56 g eines hellbraunen Feststoffes (2.00 mmol, Quant.).

¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 2.58 (s, 8H, CH₂), 3.40 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.72 (s, 6H, OCH₃), 4.18 (m, 1H, CH (C4')), 4.50 (m, 1H, CH(C3')), 5.28 (s, 1H, CH(C2')), 5.41 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.15 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 6.76 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.18 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.60 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 10.00 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 21.5- 28.3 (CH₂), 55.3 (OCH₃), 62.8 (CH₂(C5')), 71.7 (CH(C4')), 82.1 (CH(C3')), 85.7 (CH(C2')), 87.6 (CH(C1')), 103.1 (C5), 113.2 (CH_{arom}), 127.0 (CH_{arom}), 129.1 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 139.7 (C_{arom}), 143.9 (C6), 147.3 (C_{arom}), 150.4 (C2) 158.8 (C-OCH₃), 163.7 (C4), 171.3 (C(O)OH), 171.4 (C(O)OH)

02',03'-(Bis(pentadecanylsuccinyl))-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin 16 (OK-216)

1.20 g (1.60 mmol) 02',03'-(Disuccinyl)-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **15**, 180 mg (0.90 mmol) DCC und 20 mg DMAP werden in 10 ml trockenem Toluol in einem 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach einer Stunde erfolgt die Zugabe von 1.20 g (1.60 mmol) Pentadecanol und die Reaktionsmischung rührt für 72 h bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle). Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240g Säule, CHCl₃/MeOH 9:1 mit 1% Et₃N) 440 mg eines farblosen Feststoffes (0.38 mmol, 95 %).

¹H NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 0.90 (t, 3H, J = 6.4 Hz, CH₃), 1.28 (s, 48H, CH₂), 1.62 (m, 4H, CH₂), 2.71 (s, 8H, CH₂), 3.65 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.81 (s, 6H, OCH₃), 4.08 (m, 4H, CH₂), 4.18 (m, 1H, CH (C4')), 4.26 (m, 1H, CH(C3')), 5.31 (m, 1H, CH(C2')), 5.62 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.30 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 6.85 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.18 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 8.90 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 15.3 (CH₃), 21.5- 33.8 (CH₂), 55.2 (OCH₃), 62.7 (CH₂(C5')), 71.7 (CH(C4')), 82.1 (CH(C3')), 85.7 (CH(C2')), 87.6 (CH(C1')), 102.9 (C5), 113.2 (CH_{arom}), 127.0 (CH_{arom}), 129.1 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 139.9 (C_{arom}), 143.9 (C6), 147.3 (C_{arom}), 150.4 (C2) 158.8 (C-OCH₃), 162.9 (C4), 171.3 (C(O)OH), 171.5 (C(O)OH)

02',03'-(Bis(pentadecanylsuccinyl)uridin 17 (OK-225)

440 mg (0.38 mmol) 02',03'-(Bis(pentadecanylsuccinyl))-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **16** werden in 80 ml trockenem Dichlormethan in einen 250 ml Einhalskolben gelöst. Nach 5 min wird der Lösung 2.40 ml TFA hinzugefügt und weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem das Reaktionsgemisch mit 3 ml MeOH gequenchet wird, extrahiert man vorsichtig mit 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesättigten NaHCO₃-Lösung und trocknet die organische Phase über MgSO₄. Man filtriert den Feststoff ab und entfernt das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CHCl₃/MeOH; 9:1 mit 1% Et₃N) 150 mg eines farblosen Feststoffes (0.17 mmol, 46%).

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 0.88 (t, 3H, J = 6.4 Hz, CH₃), 1.26 (s, 48H, CH₂), 1.62 (m, 4H, CH₂), 2.71 (s, 8H, CH₂), 3.92 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.08 (m, 4H, CH₂), 4.18 (m, 1H, CH (C4')), 4.23 (m, 1H, CH(C3')), 5.52 (m, 1H, CH(C2')), 5.78 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.00 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 9.10 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.7- 31.8 (CH₂), 65.1 (CH₂(C5')), 71.2 (CH(C4')), 83.1 (CH(C3')), 83.5 (CH(C2')), 88.5 (CH(C1')), 103.1 (C5), 141.1 (C6), 150.4 (C2), 163.1 (C4), 171.4 (C(O)OH), 171.6 (C(O)OH)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₇H₈₁N₂O₁₂ gef.: 865.5743

ber.: 865.5784

O2'-(Bernsteinsäure)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **18** (OK-140)

500 mg (1.50 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2**, 300 mg (3.00 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 60 mg DMAP werden in 5 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben gelöst. Nachdem die Lösung für 60 h unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand zwischen 150 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und man erhält nach dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer 600 mg (1.24 mmol, 82 %) eines farblosen Feststoffes.

¹H NMR (CDCl₃) δ = 1.05 (s, 18H, CH₃), 2.57 (m, 4H, CH₂), 3.84 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.99 (s, 1H, CH(C3')), 4.14 (s, 1H, CH(C4')), 5.08 (m, 1H, CH(C2')), 5.69 (s, 1H, CH(C1')), 5.74 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 7.74 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6)), 9.23 (NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.3 (CSi), 22.7 (CSi), 27.1 (CH₃), 27.5 (CH₃), 28.3 – 29.0 (CH₂), 41.2 (CH₂NH), 67.0 (CH₂(C5')), 74.3 (CH(C3')), 74.7 (CH(C4')), 74.8 (CH(C2')), 92.2 (CH(C1')), 102.9 (C5), 141.5 (C6), 149.7(C2), 163.8 (C4), 171.3 (C(O)O), 175.6 (C(O)OH)

O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **20** (OK-3-DA)

2.92 g (12.0 mmol) Uridin werden in 80 ml trockenem Pyridin in einem 250 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach der Zugabe von 3.60 ml (11.0 mmol) TIPDS-Cl wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand zwischen 50 ml gesätt. NH₄Cl-Lösung und 150 ml Essigester extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄, dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CycH/ EtOAc 1:1) 5.26 g eines farblosen Feststoffes (10.8 mmol, 90%).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 1.02 (m, 28H, CH/CH₃), 3.92 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.11 (m, 1H, CH(C3')), 4.22 (s, 1H, CH(C4')), 4.29 (m, 1H, CH(C2')), 5.69 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 5.73 (s, 1H, CH(C1')), 7.74 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6)), 9.38 (NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.4 (SiCH), 12.9 (SiCH), 13.0 (SiCH), 13.3 (SiCH), 16.7-17.4 (CH₃), 60.1 (CH₂(C5')), 68.8 (CH(C3')), 75.1 (CH(C4')), 81.8 (CH(C2')), 90.3 (CH(C1')), 101.9 (C5), 139.9 (C6), 150.1 (C2), 163.4 (C4)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-di-tert-butyl-6-(uridin-1-yl)dioxasilin-7-yl)succinat **21a** (OK-123)

1.00 g (1.50 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 310 mg (1.50 mmol) DCC und 190 mg DMAP werden in 15 ml trockenem DMF in einem 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach einer Stunde erfolgt die Zugabe von 290 mg (0.75 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** und die Reaktionsmischung rührt für 72 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotati-

onsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60 g Säule, CycH/EtOAc 4:1 -> EtOAc) 350 mg eines farblosen Feststoffes (0.37 mmol, 21 %).

R_F-Wert = 0.71 (CycH/EtOAc 1:1)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-di-tert-butyl-6-(uridin-1-yl)dioxasilin-7-yl)succinat **21b** (OK-134)

200 mg (0.52 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 80 mg (0.38 mmol) DCC und 50 mg (0.38 mmol) HOBt werden in 5 ml trockenem DMF in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach einer Stunde erfolgt die Zugabe von 100 mg (0.26 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** und die Reaktionsmischung rührt für 72 h bei Raumtemperatur. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-di-tert-butyl-6-(uridin-1-yl)dioxasilin-7-yl)succinat **21c** (OK-142)

300 mg (0.62 mmol) O2'-(Bernsteinsäure)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxane-1,3-diyl)uridin **18**, 190 mg (0.90 mmol) DCC und 120 mg (0.9 mmol) HOBt werden in 10 ml trockenem DMF in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach einer Stunde erfolgt die Zugabe von 790 mg (1.24 mmol) 1,2,3-Trihydroxypropan-1,3-diyl-dioleat **11** und die Reaktionsmischung rührt für 72 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-di-tert-butyl-6-(uridin-1-yl)dioxasilin-7-yl)succinat **21d** (OK-212)

810 mg (1.10 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6** und 190 mg (1.5 mmol) DMAP werden in 10 ml trockenem DMF in einem 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach einer halben Stunde erfolgt die Zugabe von 380 mg (1.00 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** und die Reaktionsmischung rührt für 72h bei 80°C Ölbadtemperatur. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-di-tert-butyl-6-(uridin-1-yl)dioxasilin-7-yl)succinat **21e** (OK-249)

550 mg (1.50 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2**, 2.20 g (3.00 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 450 mg (3.00 mmol) PyPy und 0.54 ml EDC werden in 20 ml trockenem DMF in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst und für 72h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-tetraisopropylidisiloxy(uridin-1-yl)yl)succinat **21f** (OK-370)

750 mg (1.50 mmol) *O*3',*O*5'-(Tetraisopropylidisiloxy)uridin **20**, 1.25 g (1.70 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 350 mg (1.70 mmol) DCC und 50 mg DMAP werden in einem 50 ml ausgeheizten Schlenkkolben in 20 ml trockenem THF gelöst. Nach 2 d werden weitere 150 mg (0.70 mmol) DCC hinzugefügt und weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle). Anschließend wird der Harnstoff abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 3:1 -> 2:1) 760 mg eines farblosen Feststoffes (0.68 mmol, 58 %).

R_F-Wert = 0.70 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH₃), 0.94 – 1.06 (m, 28H, SiCHCH₃), 1.28 (s, 40H, CH₂), 1.58 (t, 4H, J = 6.6 Hz, CH₂), 1.98 (m, 8H, CH₂), 2.39 (t, 4H, J = 7.8 Hz, C(O)CH₂), 2.68 (m, 4H, C(O)CH₂CH₂C(O)), 3.99 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.18 (m, 4H, CH₂CHO), 4.25 (m, 1H, CH (C4')), 4.26 (m, 1H, CH (C3')), 5.28 (m, 1H, CHO), 5.32 (m, 4H, CH=CH), 5.39 (d, 1H, J = 5.1 Hz, CH (C2')), 5.68 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.79 (s, 1H, CH(C1')), 7.68 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 9.25 (s(b), 1H, NH)

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 12.4 (Si-CH), 12.8 (SiCH), 13.4 (SiCH), 14.0 (CH₃), 16.6 -17.3 (CH₃), 22.6 – 29.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 33.9 (C(O)CH₂), 59.4 (CH₂(C5')), 61.8 (C(O)CH₂O), 67.6 (CH(C3')), 69.5 (CHO), 75.6 (CH(C2')), 82.0 (CH(C4')), 88.5 (CH(C1')), 102.1 (CH(C5)), 129.6/129.9 (CH=CH), 139.2 (CH(C6)), 149.6 (C(C2)), 163.9 (C(C4)), 170.0 (C(C(O))), 173.2 (C(C(O)))

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(uridin)ylsuccinat **22** (OK 371)

675 mg (0.61 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(2,2-tetraisopropylidisiloxy(uridin-1-yl)yl)succinat **21** werden in einen kleinen Plastikgefäß in 5 mL THF gelöst. Nach der Zugabe von 0.20 ml (1.22 mmol) Triethylamintrihydrofluorid lässt man das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend extrahiert man zwischen 50 ml Essigester und 20 ml Wasser. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 470 mg eines farblosen Feststoffes (0.49 mmol, 80%). Jedoch handelt es sich dabei um das 3'-Produkt.

R_F-Wert = 0.10 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH₃), 1.28 (s, 40H, CH₂), 1.58 (t, 4H, J = 6.6 Hz, CH₂), 1.98 (m, 8H, CH₂), 2.33 (t, 4H, J = 7.8 Hz, C(O)CH₂), 2.68 (m, 4H, C(O)CH₂CH₂C(O)), 3.85 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.18 (m, 1H, CH (C4')), 4.28 (m, 4H, CH₂CHO), 4.63 (s, 1H, CH (C2')), 5.23 (m, 1H, CHO), 5.26 (m, 1H, CH (C3')), 5.32 (m, 4H, CH=CH), 5.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.81 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 7.81 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 14.1 (CH₃), 22.6 – 29.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 33.9 (C(O)CH₂), 61.7 (CH₂(C5')), 61.8 (C(O)CH₂O), 69.7 (CHO), 72.9 (CH(C2')), 73.5 (CH(C3')), 83.5 (CH(C4')), 90.6 (CH(C1')), 102.6 (CH(C5)), 129.6/129.9 (CH=CH), 141.6 (CH(C6)), 150.9 (C(C2)), 163.6 (C(C4)), 170.0 (C(C(O))), 173.2 (C(C(O)))

Elementaranalyse für C₅₂H₈₆N₂O₁₃: gef.: C: 66.02, H: 8.99, N: 3.17

ber.: C: 65.93, H: 9.15, N: 2.96

HRMS (ESI) m/z ($M+H^+$) $C_{52}H_{87}N_2O_{13}$ gef.: 947.6176

ber.: 947.6208

N6-Benzoyladenosenin **24** (OK 147)

2.00 g (7.48 mmol) Adenosin werden in 30 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 100 ml Schlenkkolben gelöst. Nachdem man 6.10 ml TMSCl der Lösung zugetropft hat, lässt man jene 3 h rühren und kühlt sie dann auf 0°C ab. Anschließend tropft man 2.60 ml Benzoylchlorid hinzu und lässt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre rühren. Die Lösung wird mittels eines Eisbades wieder auf 0°C abgekühlt, man tropft 7.5 ml Wasser hinzu, lässt sie für 30 min rühren und tropft dann 15 ml einer 25 %-igen Ammoniaklösung hinzu. Nach weiteren 30 min bei Raumtemperatur rührend, extrahiert man das Gemisch zwischen 200 ml Dichlormethan und 100 ml Wasser. Die organische Phase wird verworfen und man erhält durch Umkristallisieren aus der wässrigen Phase 2.20 g eines farblosen Feststoffes (5.93 mmol, 79 %).

1H -NMR (CD_3OH): δ = 3.85 (m, 2H, $CH_2(C5')$), 4.18 (s, 1H, $CH(C4')$), 4.39 (s, 1H, $CH(C3')$), 4.80 (m, 1H, $CH(C2')$), 6.21 (d, 1H, J = 6 Hz, $CH(C1')$), 7.68 (d, 2H, J = 7.5 Hz, CH_{arom}), 7.76 (s, 1H, CH_{arom}), 8.17 (d, J = 7.5 Hz, 2H, CH_{arom}), 8.82 (s, 1H, $CH(C8)$), 8.85 (s, 1H, $CH(C2)$)

^{13}C -NMR (CD_3OH): δ = 62.8 ($CH_2(C5')$), 72.0 ($CH(C3')$), 75.5 ($CH(C2')$), 87.4 ($CH(C4')$), 89.7 ($CH(C1')$), 126.7 (C(C5)), 129.8 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 134.0 (CH_{arom}), 134.9 (CH_{arom}), 144.7 ($CH(C8)$), 151.7 (C(C6)), 153.1 (C(C4)), 153.6 ($CH(C2)$), 164.3 (C(O)NH)

O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxy)-N6-benzoyladenosenin **25** (OK-384)

2.00 g (5.76 mmol) N6-Benzoyladenosenin **24** werden in 30 ml trockenem Pyridin in einem 100 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach der Zugabe von 2.00 ml (6.00 mmol) TIPDSCI wird die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand zwischen 50 ml gesätt. NH_4Cl -Lösung und 150 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, $CH_2Cl_2/MeOH$ 15:1) 1.54 g eines farblosen Feststoffes (2.50 mmol, 43%).

R_F -Wert = 0.56 ($CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 1.07 (m, 28H, $SiCHCH_3$), 4.10 (m, 2H, $CH_2(C5')$), 4.13 (m, 1H, $CH(C4')$), 4.67 (d, 1H, J = 5.4 Hz, $CH(C2')$), 5.12 (m, 1H, $CH(C3')$), 6.01 (s, 1H, $CH(C1')$), 7.51 – 7.60 (m, 3H, CH_{arom}), 8.00 (d, 2H, J = 7.2 Hz, CH_{arom}), 8.14 (s, 1H, C2), 8.74 (s, 1H, C8), 9.06 (s, 1H, NH)

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) = 12.6 (SiCH), 12.8 (SiCH), 13.0 (SiCH), 13.4 (SiCH), 16.6 -17.3 (CH_3), 61.5 ($CH_2(C5')$), 70.7 ($CH(C3')$), 75.0 ($CH(C2')$), 82.2 ($CH(C4')$), 89.7 ($CH(C1')$), 123.6 (C(C5)), 127.8 (CH_{arom}),

128.8 (CH_{arom}), 133.6 (C), 140.8 (CH(C8)), 149.5 (C(C6)), 150.8 (C(C4)), 151.1 (CH(C2)), 164.4 (C(O)Bz)), 170.4(C(C(O))), 171.1 (C(C(O))), 173.2 (C(C(O)))

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-tetraisopropylidisiloxy-(N6-benzoyladenosen)ylsuccinat **26** (OK-391)

1.54 g (2.50 mmol) *O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxy)-N6-benzoyladenosen* **25**, 1.62 g (2.20 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 520 mg (2.50 mmol) DCC und 100 mg DMAP werden in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben in 20 mL trockenem THF gelöst. Nach 3 d wird der Harnstoff abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 4:1 -> 1:1) 730 mg eines farblosen Feststoffes (0.55 mmol, 22 %).

R_F-Wert = 0.67 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH₃), 0.94 – 1.06 (m, 28H, SiCHCH₃), 1.28 (s, 40H, CH₂), 1.58 (t, 4H, J = 6.6 Hz, CH₂), 1.98 (m, 8H, CH₂), 2.39 (t, 4H, J = 7.8 Hz, C(O)CH₂), 2.68 (m, 4H, C(O)CH₂CH₂C(O)), 3.89 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.14 (m, 4H, CH₂CHO), 4.28 (m, 1H, CH(C4')), 5.16 (m, 1H, CH(C3')), 5.28 (m, 1H, CHO), 5.32 (m, 4H, CH=CH), 5.87 (d, 1H, J = 5.4 Hz, CH(C2')), 6.07 (s, 1H, CH(C1')), 7.51 – 7.60 (m, 3H, CH_{arom}), 8.00 (d, 2H, J = 7.2 Hz, CH_{arom}), 8.17 (s, 1H, C2), 8.74 (s, 1H, C8), 9.06 (s, 1H, NH)

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 12.4 (SiCH), 12.8 (SiCH), 13.4 (SiCH), 14.0 (CH₃), 16.6 -17.3 (CH₃), 22.6 – 29.7 (CH₂), 31.8 (CH₂), 33.9 (C(O)CH₂), 60.4 (CH₂(C5')), 61.8 (C(O)CH₂O), 68.9 (CH(C3')), 69.6 (CHO), 75.8 (CH(C2')), 82.0 (CH(C4')), 87.6 (CH(C1')), 123.4 (C(C5')), 127.8 - 128.8 (CH_{arom}), 129.6/129.9 (CH=CH), 133.6 (C), 140.8 (CH(C8)), 149.5 (C(C6)), 150.8 (C(C4)), 151.1 (CH(C2)), 164.4 (C(O)Bz)), 170.4(C(C(O))), 171.1 (C(C(O))), 173.2 (C(C(O)))

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(N6-benzoyladenosen)ylsuccinat **27** (OK-392)

730 mg (0.55 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-tetraisopropylidisiloxy-(N6-benzoyl adenosin)ylsuccinat **26** werden in einen kleinen Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach der Zugabe von 0.50 ml (1.80 mmol) Triethylamintrihydrofluorid lässt man das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend extrahiert man zwischen 50 ml Dichlormethan und 10 ml Wasser. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 530 mg eines farblosen Feststoffes (0.49 mmol, 89%). Jedoch handelt es sich dabei um das 3'-Produkt.

R_F-Wert = 0.03 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH₃), 1.28 (s, 40H, CH₂), 1.60 (t, 4H, J = 6.6 Hz, CH₂), 2.00 (m, 8H, CH₂), 2.34 (t, 4H, J = 7.8 Hz, C(O)CH₂), 2.73 (m, 4H, C(O)CH₂CH₂C(O)), 3.85 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.14 (m, 4H, CH₂CHO), 4.30 (m, 1H, CH(C3') bei Rest an C2'), 4.35 (m, 1H, CH(C4')), 4.65 (m, 1H, CH(C2')), (m, 1H, CHO), 5.25 (m, 1H, CH(C3')), 5.32 (m, 4H, CH=CH), 5.85 (m, 1H, CH(C1')), 7.51 – 7.60 (m, 3H, CH_{arom}), 8.00 (d, 2H, J = 7.2 Hz, CH_{arom}), 8.13 (s, 1H, C2), 8.43 (s, 1H, C8), 9.66 (s, 1H, NH)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 14.0$ (CH_3), $16.6 - 17.3$ (CH_3), $22.6 - 29.7$ (CH_2), 31.9 (CH_2), 34.0 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 61.7 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 62.8 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{O}$), 69.7 (CHO), 72.7 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 74.9 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 85.5 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 90.8 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 124.5 ($\text{C}(\text{C}5)$), $127.8 - 128.8$ (CH_{arom}), $129.6/129.9$ ($\text{CH}=\text{CH}$), 133.6 (C), 140.8 ($\text{CH}(\text{C}8)$), 150.3 ($\text{C}(\text{C}6)$), 150.8 ($\text{C}(\text{C}4)$), 151.1 ($\text{CH}(\text{C}2)$), 164.4 ($\text{C}(\text{O})\text{Bz}$), 170.8 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 171.5 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 173.4 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{60}\text{H}_{92}\text{N}_5\text{O}_{12}$ gef.: 1074.6710

ber.: 1074.6737

$O3',O5'$ -(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)adenosin **28** (OK290)

780 mg (2.90 mmol) Adenosin werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben suspendiert und bei 0°C mit 1.50 ml (3.34 mmol) TIPDSCI versetzt. Nun wird die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 24 h Rühren ist immer noch Edukt in der Lösung, weshalb zusätzlich 0.20 ml (0.45 mmol) 1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxan-1,3-dichlorid langsam bei 0°C zugetropft werden. Nach weiteren 24 h wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der ölige Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und einrotiert. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, EtOAc/MeOH 45:1) 1.18g eines farblosen Feststoffes. (2.27 mmol, 80%).

R_F -Wert = 0.45 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.06-1.16$ (m, 28H, $\text{CH}_3\text{-CH}$), 1.28 (s, 2H, NH_2), 1.83 (s, 1H, OH), 4.04 (m, 2H, CH_2 ($\text{C}5'$)), 4.14 (m, 1H, CH ($\text{C}4'$)), 4.61 (m, 1H, CH($\text{C}3'$)), 5.16 (m, 1H, CH($\text{C}2'$)), 5.99 (d, 1H, $J = 9$ Hz, CH($\text{C}1'$)), 7.98(s, 1H, CH($\text{C}2$)), 8.31 (s, 1H, CH($\text{C}8$))

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 12.6-13.3$ (SiCH), $17.0-17.5$ (CH_3), 61.8 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 70.9 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 75.1 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 82.2 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 98.1 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 153.3 ($\text{C}2$), 155.4 ($\text{C}4$), 156.0 ($\text{C}8$)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-tetraisopropylidisiloxyl(adenosin)ylsuccinat **29** (OK-401)

1.38 g (2.71 mmol) $O3',O5'$ -(Tetraisopropylidisiloxyl)adenosin **28**, 1.00 g (1.36 mmol) 4-(1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yloxy)-4-oxobutansäure **6**, 310 mg (1.50 mmol) DCC und 60 mg DMAP werden in einem 50 ml ausgeheizten Schlenkkolben in 20 ml trockenem THF gelöst. Nach 3 d wird der Harnstoff abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 1:1) 1.00 g eines farblosen Feststoffes (0.81 mmol, 60 %).

R_F -Wert = 0.16 (CycH/EtOAc 1:1)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.86$ (t, 6H, $J = 6.6$ Hz, CH_3), $0.94 - 1.06$ (m, 28H, SiCHCH_3), 1.28 (s, 40H, CH_2), 1.68 (t, 4H, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 1.84 (m, 8H, CH_2), 2.14 (t, 4H, $J = 8$ Hz, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 2.62 (m, 4H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 3.89 (m, 2H, CH_2 ($\text{C}5'$)), 4.07 (m, 4H, CH_2CHO), 4.92 (m, 1H, CH ($\text{C}4'$)), 5.15 (m, 6H, CH ($\text{C}3'$) + CHO + CH=CH), 5.65 (d, 1H, $J = 6$ Hz, CH ($\text{C}2'$)), 5.87 (s, 1H, CH($\text{C}1'$)), 7.93 (s, 1H, C2), 8.03 (s, 1H, C8)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 12.4$ (SiCH), 12.8 (SiCH), 13.4 (SiCH), 14.0 (CH_3), 16.6 -17.3 (CH_3), 22.6 – 29.7 (CH_2), 31.8 (CH_2), 33.9 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 60.4 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 61.7 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{O}$), 68.5 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 69.3 (CHO), 75.5 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 81.6 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 87.2 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 123.4 ($\text{C}(\text{C}5)$), 129.6/129.9 ($\text{CH}=\text{CH}$), 140.8 ($\text{CH}(\text{C}8)$), 148.4 ($\text{C}(\text{C}6)$), 152.6 ($\text{CH}(\text{C}2)$), 155.3 ($\text{C}(\text{C}4)$), 170.3 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 171.1 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 173.2 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$)

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(adenosin)ylsuccinat **31** (OK-394)

110 mg (0.10 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(*N*6-benzoyladenosin)ylsuccinat **27** werden zusammen mit 10 μl (0.20 mmol) Isobutylamin in einen 10 ml Einhalskolben in 5 ml *n*-Butanol für 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer lediglich das Edukt zurück erhalten.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(adenosin)ylsuccinat **31** (OK-396)

110 mg (0.10 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(*N*6-benzoyladenosin)ylsuccinat **27** werden zusammen mit 20 μl (0.50 mmol) einer 25%-igen NH_4Cl -Lösung in einen 10 ml Einhalskolben in 5 ml Ethanol für 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer lediglich eine Abspaltung des Esters nachgewiesen.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(adenosin)ylsuccinat **31** (OK-399)

110 mg (0.10 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-(*N*6-benzoyladenosin)ylsuccinat **27** werden in einen Druckgefäß in 10 ml Ethanol für 16 h bei 105°C gerührt. Es wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer eine Abspaltung des Esters und der Benzoylschutzgruppe nachgewiesen.

1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-(adenosin)ylsuccinat **31** (OK-402)

800 mg (0.55 mmol) 1,3-Bis(oleoyloxy)propan-2-yl-2,2-tetraisopropylidisiloxyl(adenosin)ylsuccinat **29** werden in einen kleinen Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach der Zugabe von 0.50 ml (1.80 mmol) Triethylamintri-hydrofluorid lässt man das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in Ethanol suspendiert. Anschließend filtriert man den ausgefallenen Feststoff ab und engt das Filtrat ein, welches nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1), 100 mg eines farblosen Feststoffes gibt (0.10 mmol, 18 %).

R_F -Wert = 0.35 (CycH/EtOAc 1:1)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.86$ (t, 6H, $J = 6.3$ Hz, CH_3), 1.28 (s, 40H, CH_2), 1.60 (t, 4H, $J = 6.6$ Hz, CH_2), 2.00 (m, 8H, CH_2), 2.34 (t, 4H, $J = 7.8$ Hz, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 2.73 (m, 4H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 3.85 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 4.14 (m, 4H, CH_2CHO), 4.30 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$ bei Rest an $\text{C}2'$), 4.35 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.65 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), (m, 1H, CHO), 5.25 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.32 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}$), 5.85 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.91 (s, 1H, C2), 8.15 (s, 1H, C8)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 13.9$ (CH_3), $22.6 - 29.7$ (CH_2), 31.8 (CH_2), 33.9 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 61.7 ($\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{O}$), 62.4 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 69.3 (CHO), 72.3 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 74.7 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 85.3 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 90.6 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 123.4 ($\text{C}(\text{C}5)$), $129.6/129.9$ ($\text{CH}=\text{CH}$), 140.8 ($\text{CH}(\text{C}8)$), 148.4 ($\text{C}(\text{C}6)$), 152.6 ($\text{CH}(\text{C}2)$), 155.3 ($\text{C}(\text{C}4)$), 170.3 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 171.5 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$), 173.5 ($\text{C}(\text{C}(\text{O}))$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{54}\text{H}_{90}\text{N}_5\text{O}_{11}$ gef.: 984.6438

ber.: 984,6558

3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propan-1-ol **33** (OK 203)

12.8 g (94.0 mmol) Pentaerythritol werden in einem Gemisch aus 10 ml Eisessig und 50 ml 40% HBr-Lösung in einem 250 ml Einhalskolben gelöst und für 24 h unter Rückfluss gekocht. Anschließend gibt man der Lösung weitere 50 ml 40% HBr-Lösung und 23 ml konzentrierte Schwefelsäure und kocht dieses Reaktionsgemisch weitere 24 h unter Rückfluss. Nach dem jenes abgekühlt ist, trennt man die untere Phase durch Dekantieren ab, verdünnt sie mit 50 ml Chloroform und extrahiert diese organische Phase dreimal mit 20 ml Wasser. Anschließend wird sie über K_2CO_3 getrocknet, der Feststoff abfiltriert und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (1000g Säule, CycH/EtOAc 9:1) 13.9 g eines gelben Waches (43.1 mmol, 46%).

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.97$ (s, 1H, OH), 3.53 (s, 6H, CH_2Br), 3.73 (s, 2H, CH_2OH)

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 62.3$ (CH_2OH), 44.2 (C), 34.4 (CH_2Br)

4-(3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutansäure **34** (OK 354)

3.25 g (10.0 mmol) 3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propanol **33**, 2.00 g (20.0 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 400 mg DMAP werden in einem 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 25 ml trockenen Pyridin gelöst und für 60 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer mit Hilfe von Toluol entfernt und der Rückstand zwischen 150 ml Dichlormethan und 50 ml Brine extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (40g, EtOAc) erhält man 4.05 g eines gelben Feststoffes (9.50 mmol, 95%).

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 2.68$ (m, 4H, CH_2), 3.53 (s, 6H, BrCH_2), 4.22 (s, 2H, OCH_2), 10.2 (s(b), 1H, $\text{HOC}(\text{O})$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 28.8$ (CH_2), 33.9 (BrCH_2), 42.7 (C), 63.8 (OCH_2), 171.1 ($\text{C}(\text{O})\text{O}$), 177.7 ($\text{C}(\text{O})\text{OH}$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Br}_3$ gef.: 422.8457

ber.: 422.8442

O2'-(4-(3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutanester)-O3',O5'-(tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl)uridin **35** (OK-361)

970 mg (2.00 mmol) O3',O5'-(Tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl)uridin **20**, 1.02 g (2.40 mmol) 4-(3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutansäure **34**, 495 mg (2.40 mmol) DCC und 50 mg DMAP werden in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 30 ml trockenem THF gelöst und für 64 h bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Harnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (240g Säule, CycH/EtOAc 1:1) erhält man 850 mg eines farblosen Feststoffes (0.95 mmol, 48%).

R_F-Wert = 0.71 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 1.02 (m, 30H), 2.66 (m, 4H, CH₂), 3.51 (s, 6H, BrCH₂), 3.96 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.18 (m, 3H, OCH₂ + CH(C4')), 4.32 (m, 1H, CH(C3')), 5.37 (d, 1H, J = 5 Hz, CH(C2')), 5.69 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.79 (s, 1H, CH(C1')), 7.67 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)) 9.88 (s, 1H, COOH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.7 (CH), 16.6- 17.3 (CH₃), 28.7 (CH₂), 28.8(CH₂), 34.0 (BrCH₂), 42.6 (C), 59.3 (CH₂(C5')), 63.8 (OCH₂) 67.4 (CH(C2')), 75.6 (CH(C3')), 81.9 (CH(C4')), 88.2 (CH(C1')), 102.1 (C5), 139.0 (C6), 149.8 (C2), 163.5 (C4), 170.0 (C(O)O), 170.8 (C(O)O)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₃₀H₅₀Br₃N₂O₁₀Si₂ gef.: 891.0570

ber.: 891.0554

O2'-(4-(3-Octadecyl-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutanester)-O3',O5'-(tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl)uridin **36** (OK-376)

850 mg (0.95 mmol) O2'-(4-(3-Brom-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutanester)-O3',O5'-(tetraisopropyl-disiloxan-1,3-diyl)uridin **35**, 860 mg (3.00 mmol) Octadecanthiol, 975 mg (3.00 mmol) CsCO₃ und 2.50 ml (15.0 mmol) DIPEA werden in einem 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 20 ml trockenem Dichlormethan gelöst und für 12 d bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 4:1 -> 1:1) 100 mg eines farblosen Feststoffes, jedoch nur als einfach alkyliertes Produkt (0.09 mmol, 10 %) und 400 mg des Eduktes (0.45 mmol, 47%).

R_F-Wert = 0.53 (CycH/EtOAc 4/1)

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 0.86 (t, 3H, J = 6.3 Hz, CH₃), 1.02 (m, 28H), 1.28 (s, 28H, CH₂), 1.66 (m, 2H, CH₂), 2.64 (m, 2H, SCH₂), 2.66 (m, 4H, CH₂), 3.54 (s, 4H, BrCH₂), 3.99 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.23(m, 3H, OCH₂ + CH(C4')), 4.34 (m, 1H, CH(C3')), 4.95 (m, 2H, SCH₂), 5.39 (d, 1H, J = 5 Hz, CH(C2')), 5.74 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.82 (s, 1H, CH(C1')), 7.69 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.7 - 12.9 (CH), 14.1 (CH₃), 16.7 - 17.4 (CH₃), 22.7 - 29.9 (CH₂), 21.9 (CH₂), 34.1 (BrCH₂), 39.1 (SCH₂), 42.7 (C), 59.3 (CH₂(C5')), 63.9 (OCH₂) 67.5 (CH(C2')), 75.8 (CH(C3')), 82.1 (CH(C4')), 88.9 (CH(C1')), 101.7 (C5), 137.1 (C6), 150.0 (C2), 162.1 (C4), 170.0 (C(O)O), 170.9 (C(O)O)

2'-(4-(3-Octadecyl-2,2-bis(brommethyl)propyl)-4-oxobutanester)uridin **37** (OK-408)

100 mg (0.72 mmol) *O*2'-(4-(3-Octadecyl-2,2-bis(brommethyl)propoxy)-4-oxobutanester)-*O*3',*O*5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)uridin **36**, werden in einen kleinen Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach der Zugabe von 0.40 ml (2.44 mmol) Triethylamintrihydrofluorid lässt man das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (40g Säule, (CycH/EtOAc 1/1 - > EtOAc) 45 mg eines farblosen Feststoffes (0.05 mmol, 69%). Jedoch handelt es sich dabei um eine Mischung zwischen 2'- und 3'-Produkt im Verhältnis 1:4.

R_F-Wert = 0.18 (CycH/EtOAc 1/1)

¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 0.86 (t, 3H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.28 (s, 28H, CH₂), 1.61 (m, 2H, CH₂), 2.66 (m, 4H, CH₂), 3.54 (s, 4H, BrCH₂), 3.99 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.23 (m, 3H, OCH₂ + CH(C4')), 4.64 (m, 1H, CH(C2')) für Rest an 3'), 5.00 (m, 2H, SCH₂), 5.33 (s, 2H, SCH₂), 5.39 (m, 1H, J = 5 Hz, CH(C3')), 5.81 (s, 1H, CH(C1')) für Rest an 3'), 5.85 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.97 (s, 1H, CH(C1')) für Rest an C2'), 7.73 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.7 - 33.1 (CH₂), 34.1 (BrCH₂), 42.7 (SCH₂), 61.8 (CH₂(C5')), 64.2 (OCH₂), 73.4 (CH(C2')), 75.8 (CH(C3')), 83.1 (CH(C4')), 88.9 (CH(C1')), 102.2 (C5), 139.3 (C6), 151.1 (C2), 162.2 (C4), 171.2 (C(O)O), 171.8 (C(O)O)

Arabino-*O*2',*O*2'-anhydro-*O*5'-(tertbutyldiphenylsilanyl)uridin **38** (OK 155)

2.00 g (8.14 mmol) Arabino-*O*2',*O*2'-anhydrouridin **41** werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Unter Rühren werden 2.55 ml (9.74 mmol) TBDPSCl und anschließend 20 mg DMAP hinzugefügt. Nachdem die Reaktionsmischung für 60 h bei Raumtemperatur rührt, wird der entstandene Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zwischen 250 ml Dichlormethan und 100 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man nach säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 20:1) 2.18 g eines farblosen Feststoffes. (4.69 mmol, 58%).

R_F-Wert = 0.77 (CHCl₃/MeOH 20:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.92 (s, 9H, CH₃), 3.58 (m, 2H, CH₂(C5')) 4.25 (m, 1H, CH(C4')), 4.57 (m, 1H, CH(C3')), 5.38 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C2')), 5.66 (s, 1H, OH), 5.94 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.16 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 7.30 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.51 (m, 4H, (CH_{arom}))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.1 (C-Si), 26.6 (CH₃), 62.8 (CH₂(C5')), 74.9 (CH(C3')), 87.7 (CH(C2')), 89.6 (CH(C4')), 89.7 (CH(C1')), 109.9 (C5), 127.8 (CH_{arom}), 127.8 (CH_{arom}), 129.9 (CH_{arom}), 132.6 (C_{arom}), 132.8 (C_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 139.43 (C6), 159.7 (C2), 172.5 (C4)

Elementaranalyse für C₂₅H₂₈N₂O₅Si: gef. C: 63.97, H: 6.15, N: 5.92

ber. C: 64.63, H: 6.07, N: 6.03

HRMS (ESI) m/z ($M+H^+$) $C_{25}H_{29}N_2O_5Si$ gef.: 465.1847

ber.: 465.1845

O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin 39 (OK 159)

8.60 ml (8.60 mmol) $BH_3 \cdot THF$ werden in 4.80 ml Ethylenglycol in einem 200 ml Reaktionsgefäß gelöst. Nachdem die H_2 -Entwicklung beendet ist, fügt man der Lösung 2.00 g (4.30 mmol) Arabino-*O2,O2'*-anhydro-*O5'*-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **38** und 20 mg $NaHCO_3$ bei. Das Reaktionsgemisch rührt anschließend für 16 h bei 160°C in ein Überdruckgefäß. Man erhält, nach dem Abrotieren des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und der der säulenchromatographischen Reinigung (300g Säule, $CH_2Cl_2/MeOH$ 20:1) 1.90 g eines farblosen Feststoffes (3.61 mmol, 84%).

R_F -Wert = 0.70 ($CHCl_3/MeOH$ 20:1)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 0.98 (s, 9H, CH_3), 3.55 (m, 2H, $CH_2(C5')$), 3.60 (m, 2H, CH_2), 3.67 (m, 2H, CH_2) 3.88 (m, 1H, $CH(C4')$), 3.96 (m, 1H, $CH(C2')$), 4.28 (m, 1H, $CH(C3')$) 5.24 (d, 1H, J = 8 Hz, $CH(C5)$), 5.91 (d, 1H, J = 3 Hz, $CH(C1')$), 7.30 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.54 (m, 4H, (CH_{arom})) 7.83 (d, 1H, J = 8 Hz, $CH(C6)$), 9.99 (s, 1H, NH)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ = 19.2 (C-Si), 26.9 (CH_3), 61.5 (CH_2), 63.6 ($CH_2(C5')$), 68.3 (CH_2), 72.1 ($CH(C3')$), 83.1 ($CH(C4')$), 84.3 ($CH(C2')$), 87.2 ($CH(C1')$), 102.5 (C5), 127.9 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 130.2 (CH_{arom}), 131.9 (C_{arom}), 132.8 (C_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 139.7 (C6), 150.8 (C2), 163.6 (C4)

O2'-(2-Tosylethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin 40a (OK 181)

50 mg (0.10 mmol) *O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin 39*, 20 mg (0.11 mmol) $TosCl$ und 10 mg DMAP werden zusammen in 5 ml trockenem Pyridin in einem 10 ml Schlenkkolben gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 10 ml Eiswasser gegossen und diese mit 10 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird anschließend nacheinander mit 10 ml einer 1M HCl -Lösung und mit 20 ml Brine extrahiert, über $MgSO_4$ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde lediglich das Edukt zurückerhalten.

O2'-(2-Tosylethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin 40b (OK 184)

50 mg (0.10 mmol) *O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin 39*, 20 mg (0.11 mmol) $TosCl$ und 10 mg DMAP werden zusammen in 5 ml trockenem CH_2Cl_2 in einem 10 ml Schlenkkolben gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 10 ml Eiswasser gegossen und diese mit 10 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird anschließend nacheinander mit 10 ml einer 1M HCl -Lösung und mit 20 ml Brine extrahiert, über $MgSO_4$ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde lediglich das Edukt zurückerhalten.

O2'-(2-Tosylethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **40c** (OK 233)

50 mg (0.10 mmol) O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **39**, 20 mg (0.11 mmol) TosCl und 10 mg DMAP werden zusammen bei -20°C in 5 ml trockenem Pyridin in einem 10 ml Schlenkkolben gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 10 ml Eiswasser gegossen und diese mit 10 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird anschließend nacheinander mit 10 ml einer 1M HCl-Lösung und mit 20 ml Brine extrahiert, über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde lediglich das Edukt zurückerhalten.

O2'-(2-Tosylethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **40d** (OK 238a)

260 mg (0.50 mmol) O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **39**, 120 mg (0.60 mmol) TosCl und 0.16 ml Et₃N werden zusammen bei -30°C in 5 ml trockenem Dichlormethan in einem 10 ml Schlenkkolben gelöst und 16h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 10 ml Eiswasser gegossen und diese mit 10 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird anschließend nacheinander mit 10 ml einer 1M HCl-Lösung und mit 20 ml Brine extrahiert, über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde anhand von HPLC/MS-Messungen, 3 Regioisomere nachgewiesen.

O2'-(2-Tosylethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **40e** (OK 238b)

260 mg (0.50 mmol) O2'-(2-Hydroxyethyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **39**, 120 mg (0.60 mmol) TosCl und 0.16 ml Et₃N werden zusammen bei -78°C in 5 ml trockenem Dichlormethan in einem 10 ml Schlenkkolben gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 10 ml Eiswasser gegossen und diese mit 10 ml Essigester extrahiert. Die organische Phase wird anschließend nacheinander mit 10 ml einer 1M HCl-Lösung und mit 20 ml Brine extrahiert, über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurde anhand von HPLC/MS-Messungen, 3 Regioisomere nachgewiesen.

Arabino-O2,O2'-anhydrouridin **41** (OK-115)

10.0 g (41.0 mmol) Uridin werden in 30 ml DMF bei 40°C in einem 250 ml Dreihalskolben mit aufgesetzten Rückflusskühler und Blasenähler gelöst. Nach der Zugabe von 9.64 g (45.0 mmol) Diphenylcarbonat und Erhöhung der Temperatur auf 80°C wird der Reaktion 50 mg NaHCO₃ beigesetzt. Bis zur Beendigung der Gasentwicklung wird die gelbliche Suspension für etwa 4h bei 110°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird der erhaltende Niederschlag abfiltriert und mit 20 ml Methanol gewaschen. Anschließend wird der erhaltende Feststoff in 150 ml Methanol suspendiert und für 3 h unter Rückfluss gerührt. Man erhält nach dem Abfiltrieren und Trocknen des Feststoffes im Vakuumtrockenschrank 8.12 g eines farblosen Feststoffes (35.9 mmol, 88%).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 3.34 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.27 (m, 1H, CH(C4')), 4.56 (m, 1H, CH(C3')), 5.35 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C2')), 6.08 (d, 1H, J = 7.5 Hz, CH(C5)), 6.42 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 7.83 (d, 1H, J = 7.5 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ = 61.2 (CH₂(C5')), 75.8 (CH(C3')), 89.9 (CH(C2')), 90.2 (CH(C4')), 91.3 (CH(C1')), 109.1 (C5), 138.7 (C6), 161.5 (C2), 175.6 (C4)

Elementaranalyse für C₉H₁₀N₂O: gef. C, 47,72; H, 4,49; N, 12,40

ber. C, 47,79; H, 4,46; N, 12,39

O2'-(2-Glycerol)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **42** (OK-182)

3.70 ml (3.70 mmol) BH₃•THF werden in 1.50 ml Glycerol in einen 200 ml Reaktionsgefäß gelöst. Nachdem die H₂-Entwicklung beendet ist fügt man der Lösung 500 mg (1.00 mmol) Arabino-O2,O2'-anhydro-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **38** und 20 mg NaHCO₃ bei. Das Reaktionsgemisch rührt anschließend für 16 h bei 160°C in einen Überdruckgefäß. Man erhält, nach dem Abrotieren des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 20:1), 200 mg eines farblosen Feststoffes (0.36 mmol, 36 %).

R_F-Wert = 0.47 (CH₂Cl₂/MeOH 20:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.98 (s, 9H, CH₃), 3.80 (m, 2H, OCH₂), 3.60 (m, 2H, CH₂), 3.84 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.90 (m, 1H, CH), 3.93 (m, 1H, CH(C4')), 4.26 (m, 1H, CH(C2')), 4.36 (m, 1H, CH(C3')), 5.28 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.06 (d, 1H, J = 3 Hz, CH(C1')), 7.31 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.58 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.74 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.2 (CSi), 26.9 (CH₃), 61.5 (CH₂), 62.4 (CH₂(C5')), 68.1 (CH), 74.0 (CH(C3')), 76.3 (CH(C4')), 82.7 (CH(C2')), 85.3 (CH(C1')), 101.3 (C5), 127.9 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 130.2 (CH_{arom}), 132.2 (C_{arom}), 132.6 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 135.6 (C_{arom}), 141.6 (C6), 151.1 (C2), 164.4 (C4)

O2'-((2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)-O3'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **43** (OK 405)

12.4 ml (105 mmol) DL-Isopropylidenglycerol werden zusammen mit 17 ml BH₃•THF in einem 100 ml Bombenreaktionsgefäß gerührt, bis keine Wasserstoffentwicklung mehr beobachtet wird. Anschließend gibt man dem Reaktionsgemisch 2.36 g (5.10 mmol) Arabino-O2,O2'-Anhydro-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)uridin **38** und 100 mg NaHCO₃ hinzu und rührt weitere 16 h bei 160°C. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH 20:1) gereinigt. Die relevanten Fraktionen werden bis zur Trockne eingeeengt und in einem 100 ml Einhalskolben in 20 ml DMF gelöst. Nach der Zugabe von 4.52 g (30.0 mmol) TBDMSCl und 4.05 g (60.0 mmol) Imidazol lässt man die Lösung für 24 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 100 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet,

abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CycH → CycH/EtOAc 1:1) 1.01 g eines farblosen Feststoffes (1.42 mmol, 28% über 2 Stufen) als Racemat.

R_F-Wert = 0.55 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.05 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.09 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.87 (s, 9H, CH₃), 1.11 (s, 9H, CH₃), 1.34 (d, 3H, J = 4.2 Hz, CH₃), 1.38 (d, 3H, J = 4.2 Hz, CH₃), 3.65 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.67 (m, 2H, CH₂) 3.88 (m, 1H, CH(C4')), 4.00 (m, 2H, CH₂), 4.10 (m, 1H, CH(C2')), 4.26 (m, 1H, CH(C3')) 5.22 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.96 (dd, 1H, J = 3 Hz, CH(C1')), 7.44 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.60 (m, 4H, (CH_{arom})) 7.94 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 8.87 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = -4.99 (SiCH₃), -4.54 (SiCH₃), 18.1 (SiC), 19.2 (SiC), 25.3 - 26.9 (CH₃), 61.6 (CH₂), 61.7 (CH₂(C5')), 66.6 (CH₂), 66.8 (CH₂), 78.9 (CH), 71.1 (CH₂), 71.6 (CH₂), 74.5 (CH(C3')), 83.1 (CH(C4')), 83.8 (CH(C2')), 87.7 (CH(C1')), 102.1 (C5), 110.3 (C), 128.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 130.2 (CH_{arom}), 132.0 (C_{arom}), 132.7 (C_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 135.6 (C_{arom}), 139.8 (C6), 150.0 (C2), 163.1 (C4)

O2'-(Glycerol)-O3'-(tertbutyldimethylsilanyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilanyl)uridin **44** (OK 407)

1.01 g (1.42 mmol) O2'-((2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)-O3'-(tertbutyl dimethylsilanyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilanyl)uridin **43** werden in einem 25 ml Einhalskolben bei -30°C in 10 ml THF und 1 ml Wasser gelöst. Nach der Zugabe von 0.20 ml (2.84 mmol) TFA lässt man das Reaktionsgemisch auftauen und über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Der Reaktionsverlauf wird mittels DC verfolgt. Da noch keine Reaktion festgestellt worden ist, gibt man weitere 0.10 ml (1.42 mmol) TFA hinzu und lässt die Lösung weitere 24 h rühren. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 1.00 ml MeOH gequenchet, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand vorsichtig zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert, eingeeengt und da immer noch keine Reaktion (DC-Kontrolle) stattgefunden hat, erneut in 10 ml Methanol und 1 ml Wasser gelöst. Zu der Lösung gibt man nun 2.00 g Dowex 50 X8 und lässt sie 48 h bei Raumtemperatur rühren. Das Harz wird abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (80 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 160 mg eines farblosen Feststoffes (0.24 mmol, 17%), als Racemat und 340 mg des O2'-(glycerol)-O5'-(tertbutyldiphenylsilanyl)uridin (0.61 mmol, 43%).

R_F-Wert = 0.05 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.04 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.08 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.84 (s, 9H, CH₃), 1.09 (s, 9H, CH₃), 3.70 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.79 (m, 2H, CH₂) 4.06 (m, 1H, CH(C4')), 4.08 (m, 2H, CH₂), 4.10 (m, 1H, CH(C2')), 4.26 (m, 1H, CH(C3')) 5.23 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.95 (dd, 1H, J = 3 Hz, CH(C1')), 7.37 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.60 (m, 4H, (CH_{arom})) 7.95 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 10.53 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = -5.10 (SiCH₃), -4.50 (SiCH₃), 17.8 (SiC), 19.2 (SiC), 25.5 - 27.1 (CH₃), 60.3 (CH₂), 61.4 (CH₂(C5')-OH), 63.6 (CH₂), 68.6 (CH), 70.9 (CH₂), 72.2 (CH₂), 83.4 (CH(C3')-O), 83.6 (CH(C4')-O), 83.8 (CH(C2')-O), 88.0 (CH(C1')-O), 102.4 (C5), 127.9 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 131.9 (C_{arom}), 132.5 (C_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 139.3 (C6), 150.9 (C2), 163.6 (C4)

O2'-(1,2-Distearyl-glycerol)-O3'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(tertbutyldiphenylsilyl)-uridin **45** (OK 409)

160 mg (0.24 mmol) O2'-(Glycerol)-O3'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(tertbutyl-diphenylsilyl)uridin **44**, 140 mg (0.50 mmol) Stearinsäure, 105 mg (0.50 mmol) DCC und 10 mg DMAP werden in einem 25 ml ausgeheizten Schlenkkolben in 5 ml trockenem Dichlormethan gelöst und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Harnstoff abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (80g Säule, CycH/EtOAc 1:1) 280 mg eines farblosen Feststoffes (0.23 mmol, 95 %), als Racemat.

R_F-Wert = 0.87 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.05 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.08 (d, 3H, J = 2.5 Hz, CH₃), 0.86 (m, 15H, CH₃), 1.09 (s, 9H, CH₃), 1.28 (s, 42H, 1.58 (m, 4H, CH₂), 2.28 (t, 4H, J = 6.6 Hz, C(O)CH₂), 3.63 (m, 1H, CH(C2')), 3.70 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.79 (m, 2H, CH₂), 3.97 (m, 1H, CH (C4')), 4.08 (m, 2H, CH₂), 4.29 (m, 1H, CH(C3')), 4.34 (m, 2H, CH₂), 5.18 (d, 1H, J = 8 Hz, CHOC(O)), 5.21 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.90 (s, 1H, CH(C1')), 7.37 (m, 6H, (CH_{arom})), 7.60 (m, 4H, (CH_{arom})) 7.98 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = -5.2 (SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), 14.1 (CH₃), 17.8 (SiC), 19.2 (SiC), 25.5 - 27.1 (CH₂), 61.2 (CH₂(C5')-OH), 62.3 (CH₂), 68.2 (CH₂), 68.4 (CH), 72.2 (CH₂), 69.7 (CH(C3')), 82.8 (CH(C2')), 83.3 (CH(C4')), 87.6 (CH(C1')), 101.9 (C5), 127.9 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 131.9 (C_{arom}), 132.6 (C_{arom}), 135.2 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 139.6 (C6), 150.0 (C2), 163.7 (C4), 172.8 C(O)O, 173.2 C(O)O

O2'-(1,2-Distearyl-glycerol)uridin **46** (OK 411)

280 mg (0.23 mmol) O2'-(1,2-Distearyl-glycerol)-O3'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(tertbutyl-diphenylsilyl)uridin **45** werden in einem kleinen Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach der Zugabe von 2.00 ml (2.00 mmol) einer 1 M TBAF-Lösung in THF lässt man das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CycH/EtOAc 1:1 -> EtOAc), 145 mg eines farblosen Feststoffes (0.17 mmol, 74 %), als Racemat.

R_F-Wert = 0.07 (CycH/EtOAc 1:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.82 (t, 6H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.28 (s, 42H, 1.58 (m, 4H, CH₂), 1.54 (s, 4H, CH₂), 2.28 (t, 4H, J = 6.6 Hz, C(O)CH₂), 3.70 (m, 1H, CH(C2')), 3.85 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.89 (m, 2H, CH₂), 3.97 (m, 1H, CH (C4')), 4.00 (m, 2H, CH₂), 4.13 (m, 1H, CH(C3')), 5.18 (m, 1H, CHOC(O)), 5.63 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.73 (m, 1H, CH(C1')), 7.97 (dd, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 25.5 - 27.1 (CH₂), 61.8 (CH₂(C5')), 62.3 (CH₂), 68.2 (CH₂), 68.4 (CH), 72.2 (CH₂), 81.3 (CH(C3')), 82.8 (CH(C2')), 83.3 (CH(C4')), 87.6 (CH(C1')), 101.9 (C5), 140.2 (C6), 151.0 (C2), 163.4 (C4), 172.8 C(O)O, 173.2 C(O)O

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₈H₈₇N₂O₁₀ gef.: 851.6324

ber.: 851.6282

O2,O2'-Anhydro-(O3',O5'-(tetraisopropylidisilyl)-β-D-arabinofuranos-1-yl]uracil 47 (OK 321)

Zu einer Lösung von 680 mg (3.00 mmol) Arabino-*O2,O2'*-Anhydrouridin **41** in 20 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben wird bei 0°C 1.00 ml (3.10 mmol) TIPDSCl zugegeben. Nachdem die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur rührt, wird das Lösungsmittel mit Hilfe von Toluol (3 x 10 mL) am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (CycH/EtOAc, 1:1). Man erhält 1.15 g eines farblosen Feststoffes (2.46 mmol, 82%).

¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.03 (m, 28H, SiCHCH₃), 3.90 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.99(d, J = 4.9 Hz, 1H, CH (C3')), 4.53 (m, 1H, CH (C4')), 5.33 (m, 1H, CH (C2')), 6.01 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CH (C6)), 6.10 (d, J = 6 Hz, 1H, CH (C1')), 7.36 (d, J = 8 Hz, 1H, CH (C5))

¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 12.4-13.2 (SiCH), 16.8-17.3 (CH₃), 61.5 (CH₂(C5')), 77.4 (CH(C3')), 82.9 (CH(C4')), 87.2 (CH(C2')), 88.6 (CH(C1')), 110.2 (CH5), 134.9 (C2), 159.7 (C4), 171.8 (CH6)

O2'-(2-Hydroxyethyl)-O3',O5'-(tetraisopropylidisilyl)uridin 48 (OK-320)

1.00 ml (1.00 mmol) BH₃•THF werden in 0.56 ml Ethylenglycol in einen 200 ml Reaktionsgefäß gelöst. Nachdem die H₂-Entwicklung beendet ist fügt man der Lösung 200 mg (0.55 mmol) *O2,O2'*-Anhydro-(*O3',O5'*-(tetraisopropylidisilyl)-β-*D*-arabinofuranose-1-yl]uracil **47** und 20 mg NaHCO₃ bei. Das Reaktionsgemisch rührt anschließend für 16 h bei 160°C in einen Überdruckgefäß. Man erhält, nach dem Abrotieren des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer lediglich die Edukte zurück.

O2'-(Octadecylaminocarbonyl)- O3',O5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin 50

490 mg (1.00 mmol) *O3',O5'*-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **20** werden in einem ausgeheizten Rundkolben bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre in 11 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 170 mg (1.10 mmol) CDI versetzt. Nach 4 h Rühren der farblosen Lösung verwies eine DC auf überschüssiges Edukt. Daher erfolgt mehrmals die weitere Zugabe von insgesamt 100mg (0.61mmol) CDI innerhalb von 15 h. Das Ende der Reaktion wird mittels DC nach insgesamt 22 h rühren festgestellt. Nun erfolgt langsames Zutropfen einer vorher hergestellten Lösung aus 350 mg (1,2mmol) Octadecylamin in 6 ml trockenem Dichlormethan. Nach 3 d wird das Ende der Reaktion durch DC festgestellt. Die farblose Lösung wird mit 10 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase mit 20 ml H₂O, 20 ml 5% Zitronensäure und wieder 20ml H₂O gewaschen, anschließend mit MgSO₄ getrocknet und einrotiert. Die säulenchromatographische Reinigung (60 g; CycH:EtOAc 1:1) ergab 570 mg eines farblosen Feststoffes (0.76 mmol; 76 %).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 0.89 (t, J = 6Hz, CH₃), 1.02 (m, 28H, CH/CH₃), 1.26 (m, 24H, CH₂), 1.70 (m, 2H, CH₂), 3.22 (m, 2H, CH₂), 3.97 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.22 (m, 1H, CH(C3')), 4.42 (s, 1H, CH(C4')), 4.84 (m, 1H, CH(C2')), 5.27 (s, 1H, NH); 5.71 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 5.85 (s, 1H, CH(C1')), 7.65 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.4-14.1 (SiCH, CH₃), 16.7-17.4 (CH₃), 29.3-29.9 (CH₂), 31.9 (CH₂), 41.2 (CH₂), 59.8 (CH₂(C5')), 68.1 (CH(C3')), 75.6 (CH(C4')), 82.2 (CH(C2')), 88.8 (CH(C1')), 102.2 (C5), 139.9 (C6), 150.1 (C2), 158.3(C(O)), 161.5 (C4)

O2'-(Octadecylaminocarbonyl)uridin **51**

540 mg (0.69 mmol) O2'-(Octadecylaminocarbonyl)-O3',O5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **50** werden in einem Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 0.3 ml Et₃N•HF wird die Lösung über Nacht gerührt. Die Lösung wird mit 25 ml Cyclohexan versehen, wodurch das entschützte Uridinderivat ausfällt. Nun wird die Lösung abdekantiert und anschließend 3-mal mit je 20 ml eines 1:1 Gemisches aus CycH/Toluol gewaschen und abdekantiert. Das Umkristallisieren des Rückstandes erfolgt in 3 ml Ethanol. Es werden 290 mg eines farblosen Feststoffes erhalten (0.53 mmol; 77%).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 0.89 (t, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.26 (m, 24H, CH₂), 1.65 (m, 2H, CH₂), 3.19 (m, 2H, CH₂), 3.99 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.21 (m, 1H, CH(C4')), 4.62 (s, 1H, CH(C3')), 5.00 (m, 1H, CH(C2')), 5.25 (s, 1H, NH); 5.55 (s, 1H, CH(C1')), 5.75 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 7.77 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6)), 9.38 (NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 13.0 (CH₃), 29.3-29.9 (CH₂), 31.9 (CH₂), 41.2 (CH₂), 67.2 (CH₂(C5')), 74.1 (CH(C3')), 80.7 (CH(C2')), 84.6 (CH(C4')), 88.4 (CH(C1')), 101.3 (C5), 139.9 (C6), 150.1 (C2), 154.0 (C(O)), 162.5 (C4)

MS (ESI) *m/z* (M+Na⁺) C₂₈H₄₉N₃NaO₇ gef.: 562.40

ber.: 562.35

O2'-(Imidazol-1-ylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **52** (OK-130)

770 mg (2.00 mmol) O3',O5'-(Ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **2** werden in 20 ml trockenem Dichlormethan in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nach der Zugabe von 340 mg (2.10 mmol) CDI wird die Reaktionsmischung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird sie zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, EtOAc) 940 mg eines farblosen Feststoffes (1.96 mmol; Quant.).

R_F-Wert = 0.36 (EtOAc)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.9 (CH₃-C-Si), 22.7 (CH₃-C-Si), 26.8 (CH₃-CH-Si), 27.2 (CH₃-CH-Si), 66.9 (CH₂(C5')), 74.7 (CH(C3')), 75.0 (CH(C4')), 77.7 (CH(C2')), 91.7 (CH(C1')), 103.3 (C5), 117.0 (CH_{Imid}), 131.0 (CH_{Imid}), 137.1 (CH_{Imid}), 140.6 (C6), 147.4 (OC(O)N), 149.6 (C2), 162.9 (C4)

O2'-(Diocadecylaminocarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **53** (OK-132)

500 mg (1.00 mmol) O2'-(Imidazol-1-ylcarbonyl)-O3', O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl) uridin **52** werden in 20 ml trockenem Dichlormethan in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben gelöst. Unter Rühren werden 780 mg (1.50 mmol) Diocadecylamin hinzugefügt und die Reaktionsmischung für 14 d bei 40°C unter Argonatmosphäre gerührt. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

O2'-(9-Fluorenylaminocarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **54** (OK-139)

200 mg (0.40 mmol) O2'-(Imidazol-1-ylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **52** und 110 mg (0.63 mmol) 2-Aminofluoren werden in 10 ml trockenem Dichlormethan in einem 25 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Lösung für 14 d bei 40°C unter Argonatmosphäre gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Es wurde anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen.

O2'-(1,4-Diaminobutylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **55** (OK-156)

500 mg (1.00 mmol) O2'-(Imidazol-1-ylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **52** und 160 mg (1.50 mmol) Butan-1,4-diamin werden in 20 ml trockenem Dichlormethan in einem 25 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Lösung für 48 h gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

O2'-(1,6-Diaminohexylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **56** (OK-158)

500 mg (1.00 mmol) O2'-(Imidazol-1-ylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **52** und 190 mg (1.50 mmol) Hexan-1,6-diamin werden bei 0°C in 20 ml trockenem Dichlormethan in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Lösung für 48 h gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand zwischen 50 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und man erhält nach dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer 300 mg eines farblosen Feststoffes (0.60 mmol, 60 %).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 0.87 (t, 3H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.05 (s, 18H, CH₃), 1.51 (m, 2H, CH₂NH₂), 3.19 (m, 2H, NHCH₂), 3.99 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.44 (s, 1H, CH(C4')), 4.82 (s, 1H, CH(C3')), 5.34 (m, 1H, CH(C2')), 5.69 (s, 1H, CH(C1')), 5.74 (d, 1H, J = 8 Hz, C(C5)), 7.17 (d, J = 8 Hz, 1H, C(C6)), 9.23 (NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 20.3 (SiC), 22.7 (SiC), 27.0 (CH₃), 27.3 (CH₃), 27.4 (CH₂NH₂), 40.1 (CH₂NH), 67.1 (CH₂(C5')), 73.3 (CH(C3')), 74.7 (CH(C4')), 75.8 (CH(C2')), 94.1 (CH(C1')), 102.9 (C5), 141.1 (C6), 150.5(C2), 155.8 (C(O)), 163.0 (C4)

O2'-(1-Aminooctadecyl-6-aminoethylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **57** (OK-162)

150 mg (0.30 mmol) O2'-(1,6-Diaminohexylcarbonyl)-O3',O5'-(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **56**, 210 mg (1.00 mmol) K₂CO₃ und 210 mg (0.63 mmol) Octadecylbromid werden in 2 ml trockenem DMF in einen 5 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Lösung für 48 h gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt, der Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml Wasser extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Man erhält nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer 200 mg eines farblosen Feststoffes (0.27 mmol, 88 %).

¹H NMR (CDCl₃) δ = 0.87 (t, 3H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.05 (s, 18H, C- CH₃), 1.27 (s, 32H, CH₂), 1.59 (m, 4H, CH₂), 2.50 (m, 2H, CH₂NH), 2.87 (m, 2H, CH₂NH), 3.29 (m, 2H, NHCH₂), 3.69 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.24 (s, 1H,

$CH(C4')$, 4.42 (s, 1H, $CH(C3')$), 5.23 (m, 1H, $CH(C2')$), 5.74 (d, 1H, $J = 8$ Hz, C(C5)), 5.89 (s, 1H, $CH(C1')$), 7.67 (d, $J = 8$ Hz, 1H, C(C6))

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 14.1$ (CH_3), 20.3 (C-Si), 22.7 (C-Si), 27.0 (CH_3), 27.3 (CH_3), 27.4–31.9 (CH_2), 36.5 ($CH_2NHC(O)$), 40.1 (CH_2NH), 50.5 (CH_2NH), 65.8 ($CH_2(C5')$), 73.3 ($CH(C3')$), 74.9 ($CH(C4')$), 87.8 ($CH(C2')$), 89.7 ($CH(C1')$), 102.5 (C5), 145.4 (C6), 150.5 (C2), 159.7 (C(O)NH), 162.6 (C4)

$O2'$ -(1-Aminooctadecyl-6-aminohexylcarbonyl)uridin **58** (OK 167)

200 mg (0.27 mmol) $O2'$ -(1-Aminooctadecyl-6-aminohexylcarbonyl)- $O3',O5'$ -(ditertbutylsiloxan-1,3-diyl)uridin **57** und 0.2 ml $Et_3N \cdot 3HF$ werden in 15 ml MeOH in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur rührt, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte jedoch kein Produkt isoliert werden.

N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** (OK-229)

4.00 g (7.70 mmol) Dioctadecylamin werden in 40 ml frisch destillierten Acrylnitril in einen 100 ml Einhalskolben gelöst und 18 h unter Rückfluss erhitzt. Die farblose Lösung wird anschließend eingeeengt, und der ausfallende, wachsartige Feststoff säulenchromatographisch (40g, Petrolether/Diethylether 2:1) gereinigt. Man erhält 4.25 g eines farblosen Feststoffs (7.40 mmol, 97%).

1H NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) = 0.88 (t, 6H, $J = 6$ Hz, CH_3), 1.25 (s, 58H, CH_2), 1.41 (m, 4H, CH_2), 2.40 (m, 6H, CH_2), 2.79 (m, 2H, CH_2N)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 14.1$ (CH_3), 16.1 (CH_2CN), 22.7–31.9 (CH_2), 49.6 (CH_2N), 53.8 (CH_2N), 119.2 (CN)

2-(Dioctadecylamino)acetamid **62** (OK-258)

1.10 g (1.94 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** werden in 20 ml Aceton in einem 100 ml Einhalskolben gelöst. Da es darin schlecht löslich ist, wird 4 ml Cyclohexan dem Reaktionsgemisch hinzugefügt und jenes auf 0°C abgekühlt. Nach der Zugabe von 5 ml 25% NH_4OH und 7 ml 30% H_2O_2 rührt das Reaktionsgemisch für 6 h bei 0°C. Die Reaktion wird mit der langsamen Zugabe von 20 ml 39% $NaHSO_3$ -Lösung gestoppt. Es konnte anhand der DC jedoch kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

2-(Dioctadecylamino)acetamid **62** (OK-263)

560 mg (1.00 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** werden in 1.60 ml Trifluoressigsäure und 0.40 ml konzentrierte Schwefelsäure in einem 10 ml Einhalskolben gelöst und für 32 h bei 60°C gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung zwischen Eiswasser und Essigester extrahiert, die organische Phase über $MgSO_4$ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 580 mg eines farblosen Feststoffes (1.00 mmol, Quant.).

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) = 0.86 (t, 6H, J = 6Hz, CH_3), 1.24(s, 58H, CH_2), 1.41 (m, 4H, CH_2), 2.40 (m, 4H, CH_2), 2.85 ($\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 29.5-29.7 (CH_2), 31.9 (CH_2), 46.5 (CH_2NH_2), 49.6 (CH_2N), 59.4 (CH_2N), 175.3 ($\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$)

N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** (OK-264)

580 mg (1.00 mmol) 2-(Diocetadecylamino)acetamid **62** und 220 mg (15.50 mmol) NaBH_4 werden in 5 ml trockenem THF in einem 10 ml Schlenkkolben unter starker Wasserstoffentwicklung gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch auf 0°C abkühlt ist, gibt man jenen vorsichtig 0.74 ml (6.00 mmol) $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ hinzu und lässt es erst 5 h unter Rückfluss und dann 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre rühren. Es konnte anhand der DC kein Reaktionsumsatz nachgewiesen werden.

N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** (OK-246)

1.50 g (2.61 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** werden in 60 ml Eisessig in einen 250 ml Einhalskolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.80 g $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (10wt%) rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar). Nachdem der Katalysator abfiltriert ist, entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Es konnte lediglich das Edukt und das Dimerkupplungsprodukt erhalten werden.

N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** (OK-247)

600 mg (2.61 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** werden in 10 ml EtOAc in einem 200 ml Reaktionsgefäß gelöst. Nach der Zugabe von 1.80 g $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (10wt%) rührt das Reaktionsgemisch für 36 h bei 90°C unter einer Wasserstoffatmosphäre (5 bar) in einem Autoklaven. Nachdem der Katalysator abfiltriert ist, entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Es konnte lediglich das Edukt zurückgewonnen werden.

N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** (OK-262)

1.10 g (1.94 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** werden in 25 ml CH_2Cl_2 und in 5 ml MeOH in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nach der Zugabe von 950 mg (3.88 mmol) $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ wird das Reaktionsgemisch auf 0°C abgekühlt, vorsichtig mit 750 mg (19.40 mmol) NaBH_4 versetzt und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte nach dem Extrahieren zwischen 100 ml Dichlormethan und 20 ml Wasser und dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 , 1.00 g eines farblosen Feststoffes (0.18 mmol, 90%) erhalten werden.

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) = 0.86 (t, 6H, J = 6Hz, CH_3), 1.24(s, 58H, CH_2), 1.41 (m, 4H, CH_2), 2.40 (m, 4H, CH_2), 2.53 (m, 2H, CH_2N), 2.84 (CH_2NH_2)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 29.5-29.7 (CH_2), 31.9 (CH_2), 42.5 (CH_2NH_2), 49.6 (CH_2N), 53.8 (CH_2N)

N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** (OK-231)

530 mg (14.0 mmol) Lithiumaluminiumhydrid werden in einem 50 ml Dreihalskolben in 15 ml trockenem Diethylether suspendiert. Dazu tropft man vorsichtig eine Lösung aus 1.95 g (3.40 mmol) N,N-Bis-octadecyl-2-cyanoethylamin **60** in 5 ml Diethylether hinzu, so dass es ohne Erhitzung zum Sieden des Ethers kommt. Anschließend lässt man das Reaktionsgemisch 4 h unter Rückfluss rühren. Die Reaktion wird mit 1 ml kaltem Wasser gequenchet. Die ethrige Phase wird abdekantiert und mit 500 mg NaHCO_3 versetzt. Die wässrige Phase wird 3-mal mit 5 ml Diethylether extrahiert. Die kombinierten ethrigen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet. Man erhält 1.70g eines farblosen Feststoffes (2.96 mmol, 87%).

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) = 0.86 (t, 6H, J = 6Hz, CH_3), 1.24(s, 58H, CH_2), 1.41 (m, 4H, CH_2), 2.40 (m, 4H, CH_2), 2.53 (m, 2H, CH_2N), 2.84 (CH_2NH_2)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 29.5-29.7 (CH_2), 31.9 (CH_2), 42.5 (CH_2NH_2), 49.6 (CH_2N), 53.8 (CH_2N)

$O2'$ -((Dioctadecylamino)ethylcarbamoyl)- $O3',O5'$ -(tetraisopropylidisiloxy)uridin **64** (OK-267)

530 mg (0.90 mmol) $O2'$ -(Carbomoylimidazol)- $O3',O5'$ -(tetraisopropylidisiloxy)uridin **49** und 1.00 g (1.80 mmol) N,N-Bis-octadecyl-1,3-aminopropylamin **61** werden in 20 ml trockenem Dichlormethan in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem die Lösung für 3 Wochen gerührt hat, wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Aufarbeitung (120g Säule, EtOAc), 720 mg eines farblosen Feststoffes (0.67 mmol, 74 %).

R_F -Wert = 0.40 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1)

^1H -NMR (CDCl_3): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH_3), 1.02 (s, 28H, SiCHCH_3), 1.28 (s, 40H, CH_2), 1.62 (m, 2H, CH_2), 1.98 (m, 8H, CH_2), 2.36 (m, 4H, CH_2N), 2.49 (m, 2H, CH_2N), 3.25 (m, 2H, CH_2NH), 3.92 (m, 1H, CH ($\text{C4}'$)), 4.20 (m, 2H, CH_2 ($\text{C5}'$)), 4.38 (m, 1H, CH ($\text{C3}'$)), 5.27 (d, 1H, J = 6 Hz, CH ($\text{C2}'$)), 5.78 (d, 1H, J = 8 Hz, CH (C5)), 5.81 (s, 1H, CH ($\text{C1}'$)), 6.38 (t, 1H, 4.8 Hz, NH), 7.62 (d, 1H, J = 8 Hz, CH (C6))

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm) = 12.1-12.6 (SiCH), 14.1 (CH_3), 16.7 – 17.4 (CH_3), 22.7 – 29.7 (CH_2), 31.9 (CH_2), 41.1 (NHCH_2), 53.5 (CH_2N), 54.0 (CH_2N), 62.7 (CH_2 ($\text{C5}'$)), 68.1 (CH ($\text{C3}'$)), 75.3 (CH ($\text{C2}'$)), 82.1 (CH ($\text{C4}'$)), 89.0 (CH ($\text{C1}'$)), 102.1 (CH (C5)), 139.6 (CH (C6)), 149.5 (C (C2)), 154.6 (C (C(O)NH)), 163.0 (C (C4))

$O2'$ -((Dioctadecylamino)ethylcarbamoyl)uridin **65** (OK 379)

680 mg (0.63 mmol) $O2'$ -((Dioctadecylamino)ethylcarbamoyl)- $O3',O5'$ -(tetraisopropyl-disiloxy)uridin **64** werden in einem kleinen Plastikgefäß in 10 ml Tetrahydrofuran gelöst. Nach der Zugabe von 0.20 ml (1.22 mmol) Triethylamintrihydrofluorid lässt man das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur rühren. Das

Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (80g Säule CH₂Cl₂/MeOH 15:1-> 5:1) 385 mg eines farblosen Feststoffes (0.46 mmol, 73 %).

R_F-Wert = 0.22 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.22 (s, 40H, CH₂), 1.71 (m, 2H, CH₂), 2.55 (m, 6H, CH₂N), 3.13 (m, 2H, CH₂NH), 3.80 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.02 (m, 1H, CH (C4')), 4.44 (m, 1H, CH (C3')), 5.27 (d, 1H, J = 5.1 Hz, CH (C2')), 5.68 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.87 (s, 1H, CH(C1')), 6.60 (t, 1H, J = 4.8 Hz, NH), 7.80 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 14.0 (CH₃), 22.6 – 29.7 (CH₂), 31.9 (CH₂), 39.5 (NHCH₂), 51.6 (CH₂N), 52.9 (CH₂N), 60.9 (CH₂(C5')), 69.0 (CH(C3')), 76.0 (CH(C2')), 84.8 (CH(C4')), 88.5 (CH(C1')), 102.5 (CH(C5)), 139.9 (CH(C6)), 151.0 (C(C2)), 155.8 (C(C(O)NH)), 164.7 (C(C4))

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₈H₉₁N₄O₇ gef.: 835.6869

ber.: 835.6882

O2'-(Octadecylaminocarbonyl)-O3',O5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3- diyl)adenosin **67a**

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben wird bei Raumtemperatur zunächst 390 mg (0.76 mmol) O3',O5'-(Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)adenosin **28** unter Argonatmosphäre in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 210 mg (1.30 mmol) CDI versetzt. Nach 5 h rühren der farblosen Lösung wird durch DC das Ende der Reaktion festgestellt. Nun erfolgt die Zugabe von 400 mg (1.30 mmol) 90%igem Octadecylamin. Nach 2½ d rühren, wird die Suspension mit 15 ml trockenem Dichlormethan versetzt, die organische Phase mit 20 ml Wasser und 20ml 5% Zitronensäure gewaschen und der ausfallende Feststoff mit 10 ml Cyclohexan und 20 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, EtOAc/MeOH 90:1) erhält man 380 mg eines farblosen Feststoffes (0.47mmol, 62%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (m, 3H, CH₃) 1.16-1.06 (m, 28H, CH₃-CH), 1.24-1.29 (m, 28H, CH₂), 1.50 (m, 2H, NH₂), 3.16 (m, 2H, CH₂NH), 4.20 (m, 3H, CH₂ (C5'+C4')), 5.00 (m, 1H, (C3')), 5.16 (m, 1H, CH (C2')), 6.03 (d, 1H, J = 6Hz, CH(C1')), 7.96 (s, 1H, CH(C2)), 8.30 (s, 1H, CH(C2))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.6-13.3 (Si-CH & CH₃), 17.0-17.5(CH₃), 22.6-31.8 (CH₂), 40.9 (CH₂NH), 61.8 (CH₂(C5')), 70.9 (CH(C3')), 75.1(CH(C2')), 82.2(CH(C4')), 98.7 (CH(C1')), 153.0 (CH(C8)), 155.4 (C(C2)), 156.0 (C(C4))

O2'-(Octadecylaminocarbonyl)adenosin **68a**

360 mg (0.45mmol) O2'-(Octadecylaminocarbonyl)-O3',O5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3- diyl)adenosin **67a** werden in einem Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 0.20 ml Triethylamintrihydrofluorid wird die Lösung über Nacht gerührt. Die Suspension wird mit 25 ml Cyclohexan versehen und abdekantiert. An-

schließlich wird 2-mal mit je 20ml eines 1:1 Gemisches aus CycH/Toluol gewaschen und abdekantiert. Nach dem Umkristallisieren in Ethanol erhält man 200 mg eines farblosen Feststoffes (0.36mmol; 76%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (m, 3H, CH₃), 1.22-1.23 (m, 28H, CH₂), 1.50 (m, 2H, NH₂), 3.16 (m, 2H, CH₂NH), 3.79 - 4.10 (m, 3H, CH₂ (C5'+C4')), 4.44 (m, 1H, (C3')), 5.36 (m, 1H, CH (C2')), 5.90 (d, 1H, J = 6Hz, CH(C1')), 7.93 (s, 1H, CH(C2)), 8.04 (s, 1H, CH(C2))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 13.8 (CH₃), 22.6-31.8 (CH₂), 40.9 (CH₂NH), 62.1 (CH₂(C5')), 70.2 (CH(C3')), 75.8(CH(C2')), 87.4 (CH(C4')), 98.7 (CH(C1')), 151.9 (CH(C8)), 155.4 (C(C2)), 155.6 (C(C4))

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₃₁H₅₃O₆N₃ gef.: 563.3927

ber.: 563.3929

O2'-(Phenylcarbamoyl)-O3',O5'-(tetraisopropylidisiloxy)uridin (OK-271)

530 mg (0.90 mmol) O2'-(Carbamoylimidazol)-O3',O5'-(tetraisopropylidisiloxy)uridin werden in 10 ml trockenem THF in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nachdem die Reaktionsmischung mittels eines Eisbades auf 0°C abgekühlt ist, wird sie mit 1.00 ml Benzylmagnesiumchlorid (2 M in THF) versetzt und 96 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird sie zwischen 150 ml Dichlormethan und 50 ml Wasser extrahiert, die organischen Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (80 g Säule, CycH/EtOAc 2:3 -> EtOAc) 500 mg eines farblosen Feststoff (0.82 mmol, 91%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.02 (s, 28H, SiCHCH₃), 3.77 (m, 2H, CH₂), 4.10 (m, 2H, CH₂(C5')), 4.28 (m, 1H, CH(C4)), 4.38 (m, 1H, CH(C3')), 4.72 (s, 1H, CH(C2')), 5.61 (s, 1H, CH(C1')), 5.78 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.38 (t, 1H, 4.8 Hz, NH), 7.27-7.43 (m, 5H, CH_{arom}), 7.59 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 12.1-12.6 (SiCH), 16.7 - 17.4 (CH₃), 42.0 (CH₂), 61.7 (CH₂(C5')), 68.1 (CH(C3')), 81.3 (CH(C2')), 82.1 (CH(C4')), 87.0 (CH(C1')), 102.1 (CH(C5)), 126.9 (CH_{arom}), 128.8 (CH_{arom}), 129.6 (CH_{arom}), 133.6 (C_{arom}), 139.6 (CH(C6)), 150.1 (C(C2)), 163.6 (C(C4)), 165.6 (C(O))

O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)guanosin 66b

820 mg (2.90 mmol) Guanosin werden in 10 ml trockenen Pyridin und 2 ml trockenen DMF in einen ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben suspendiert und bei 0°C mit 1.50 ml (3.34 mmol) TIPDSCI versetzt. Nun wird die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 24 h wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der ölige Rückstand wird zwischen 100 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesättigten NaHCO₃-Lösung, die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und einrotiert. Man erhält nach der säulenchromatographischer Reinigung (120g Säule, EtOAc/MeOH 45:1) 1.46g eines farblosen Feststoffes. (2.78 mmol, 96%).

R_F-Wert = 0.20 (CHCl₃/MeOH 9:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.91-1.08 (m, 28H, CH₃-CH), 3.99 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.24 (m, 1H, CH (C4')), 4.44 (m, 1H, CH(C3')), 5.66 (m, 1H, CH(C2')), 5.85 (s, 2H, NH₂), 6.52 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 8.57 (s, 1H, CH(C8))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.4-13.3 (Si-CH), 17.2-17.7(CH₃), 61.0 (CH₂(C5')), 69.9 (CH(C3')), 74.3 (CH(C2')), 81.4 (CH(C4')), 88.3 (CH(C1')), 154.3 (C2), 157.3 (C4), 162.9 (C8)

02'-(Octadecylaminocarbonyl)-03',05'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)guanosin **67b**

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben wird bei Raumtemperatur zunächst 530 mg (1.00 mmol) 03',05'-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)guanosin **66b** unter Argonatmosphäre in 7 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 220 mg (1.30 mmol) CDI versetzt. Nach 24 h rühren der gelblichen Lösung wird durch DC das Ende der Reaktion festgestellt. Nun erfolgt die Zugabe von 320 mg (1.10 mmol) 90%igem Octadecylamin. Nach 2d rühren wird die vollständige Umsetzung durch DC festgestellt. Die gelbliche Suspension wird mit 12 ml Dichlormethan versetzt, die organische Phase mit 20 ml Wasser und 20 ml 5% Zitronensäure gewaschen und der ausfallende Feststoff mit 10 ml Cyclohexan und 20 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Säulenchromatographische Reinigung (80g Säule, EtOAc/MeOH 9:1) ergab 320 mg eines farblosen Feststoffes (0.55mmol, 55 %).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.85 (m, 3H, CH₃), 1.04 (m, 28H, CH₃-CH), 1.25 (m, 22H, CH₂), 3.18 (m, 2H, CH₂-NH), 4.53 (m, 3H, CH₂ (C5'+C4')), 5.18 (m, 1H, (C3')), 5.57 (m, 1H, CH (C2')), 5.87 (d, 1H, J = 6Hz, CH(C1')), 7.39 (s, 1H, CH(C2)), 7.77 (s, 1H, CH(C2)), 11.98 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.4-14.1 (SiCH + CH₃), 17.2-17.7(CH₃), 22.7–31.9 (CH₂), 41.2 (CH₂NH), 61.1 (CH₂(C5')), 69.8 (CH(C3')), 75.2(CH(C2')), 82.0(CH(C4')), 88.7 (CH(C1')), 149.9 (C(C5)), 151.1 (C(C4)), 153.7 (CH(C2)), 154.0 (C(O)NH), 158.9 (C(C6)), 162.9 (CH(C8))

02'-(Octadecylaminocarbonyl)guanosin **68b**

310 mg (0.38mmol) 02'-(Octadecylaminocarbonyl)-03',05'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)guanosin **67b** werden in einem Plastikgefäß in 15 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 0.18 ml Triethylamintrihydrofluorid wird die Lösung über Nacht gerührt. Der geleeartige Rückstand wird in eine Fritte überführt und mit Cyclohexan gewaschen, wodurch im Filtrat ein farbloser Feststoff ausfällt. Anschließend erfolgt nochmaliges Waschen der geleeartigen Substanz mit Ethanol, wodurch sich der ausgefallene Feststoff löst. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der Rückstand in Ethanol umkristallisiert. Man erhält nach dem Trocknen des geleeartigen Feststoffes im Vakuumtrockenschrank 65 mg (0.11mmol, 29%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.85 (m, 3H, CH₃), 1.25 (m, 22H, CH₂), 3.18 (m, 2H, CH₂-NH), 4.53 (m, 3H, CH₂ (C5'+C4')), 4.44 (m, 1H, (C3')), 5.26 (m, 1H, CH (C2')), 5.87 (d, 1H, J = 6Hz, CH(C1')), 7.39 (s, 1H, CH(C2)), 7.77 (s, 1H, CH(C2)), 11.98 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.7–31.9 (CH₂), 41.2 (CH₂NH), 62.1 (CH₂(C5')), 70.8 (CH(C3')), 75.8 (CH(C2')), 87.2 (CH(C4')), 98.7 (CH(C1')), 149.9 (C(C5)), 151.1 (C(C4)), 153.7 (CH(C2)), 154.0 (C(O)NH), 158.9 (C(C6)), 162.9 (CH(C8))

HRMS (ESI) m/z ($M+H^+$) $C_{29}H_{51}O_6N_6$ gef.: 579.3863

ber.: 579.3865

O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)cytidin 66c

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben wird unter Argonatmosphäre 710 mg (2.90 mmol) Cytidin in 15 ml abs. Pyridin suspendiert. Anschließend wird die auf 0°C gekühlte Lösung tropfenweise mit 1.50 ml (3.34 mmol) TIPDSCI versetzt, wodurch sich das Cytidin langsam löst. Nun wird die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 24 h rühren ist immer noch Edukt in Lösung, weshalb zusätzlich 0.20 ml (0.45 mmol) TIPDSCI langsam bei 0°C zugetropft werden. Das Ende der Reaktion wird mittels DC nach weiteren 24 h rühren festgestellt. Nun erfolgt das Quenchen mit 2 ml Methanol mit anschließendem Einengen der Lösung. Der ölige Rückstand wird zwischen 100 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesättigten $NaHCO_3$ -Lösung extrahiert, mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Es werden 1.22g eines farblosen Feststoffes erhalten (2.58 mmol, 89 %).

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 0.84 (m, 28H, CH_3 -CH), 3.99 (m, 2H, CH_2 ($C5'$)), 4.24 (m, 1H, CH ($C4'$)), 4.44 (m, 1H, CH($C3'$)), 5.66 (m, 1H, CH($C2'$)), 5.66 (d, 1H, J = 6Hz, CH($C1'$)), 7.82 (d, 1H, J = 8Hz, CH($C6$))

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ = 12.4-13.3 (SiCH), 17.2-17.7(CH_3), 54.4 (CH_2 ($C5'$)), 78.8(CH($C3'$)-O), 80.2(CH($C2'$)), 85.4(CH($C4'$)), 95.3 (CH($C1'$)), 144.7 (CH($C6$)), 160.0 (C($C2$)), 167.7 (C($C4$))

O2'-(Octadecylaminocarbonyl)-O3',O5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)cytidin 67c

In einem ausgeheizten 50 ml Rundkolben wird bei Raumtemperatur zunächst 390 mg (0.83 mmol) des *O3',O5'-(Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)cytidins 66c* in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 170 mg (1.10 mmol) CDI versetzt. Nach 7 h Rühren der farblosen Lösung verwies eine DC auf überschüssiges Edukt. Daher erfolgt die weitere Zugabe von 112 mg (0.69 mmol) CDI. Das Ende der Reaktion wird mittels DC nach insgesamt 24 h Rühren festgestellt. Nun erfolgt langsames Zutropfen einer vorher hergestellten Lösung aus 410 mg (1.40 mmol) 90%igem Octadecylamin in 4 ml trockenem Dichlormethan. Nach 2 d rühren befindet sich immer noch ein wenig des Carbonylimidazolderivates des geschützten Cytidins in der Reaktionsmischung, worauf weitere 170 mg (0.57 mmol) 90%iges Octadecylamin zu der nun leicht gelblicher Lösung hinzu gegeben werden. Das Ende der Reaktion wird nach 24 h durch DC festgestellt. Die gelbliche Lösung wird mit 15 ml Dichlormethan versetzt, die organische Phase mit 20 ml Wasser und 20 ml 5% Zitronensäure extrahiert und der ausfallende Feststoff mit Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Eine säulenchromatographische Reinigung (120g Säule, EtO-Ac/MeOH 20:1 \rightarrow 9:1) ergab 300 mg eines hellgelben Feststoffes (0.37 mmol, 45 %).

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 0.84 (m, 3H, CH_3 - CH_2), 0.90-1.06 (m, 28H, CH_3 -CH), 1.24 (m, 30H, (CH_2), 3.20 (m, 2H, CH_2 ($C5'$)), 3.97 (m, 1H, CH ($C4'$)), 4.31 (m, 1H, CH($C3'$)), 5.20 (m, 1H, CH($C2'$)), 5.75 (d, 1H, J = 6Hz, CH($C1'$)), 7.69 (d, 1H, J = 8Hz, CH($C6$))

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 12.4-14.4 (Si-CH & CH_3), 17.2-17.7(CH_3), 22.7-31.9 (CH_2), 41.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 60.0 (CH_2NH), 63.0 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 76.0 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 85.9($\text{CH}(\text{C}2')$), 89.0($\text{CH}(\text{C}4')$), 94.8 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 140.4 ($\text{CH}(\text{C}6)$), 154.3 ($\text{C}(\text{C}2)$), 155.4 ($\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 165.9 ($\text{C}(\text{C}4)$)

$O2'$ -(Octadecylaminocarbonyl)cytidin 68c

250 mg (0,32mmol) $O2'$ -(Octadecylaminocarbonyl)- $O3'$, $O5'$ -(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)cytidin werden in einem Plastikgefäß in 10 ml THF gelöst. Nach Zugabe von 0.17 ml Triethylamintrihydrofluorid wird die Lösung über Nacht gerührt. Die Lösung wird mit 25 ml Cyclohexan versehen. Als keine Phasentrennung erfolgte, wird der gelbliche Rückstand eingeengt und man erhält nach dem Umkristallisieren in Ethanol 65 mg eines farblosen Feststoffes (0.20 mmol, 68%).

^1H -NMR (CD_3OD): δ = 0.84 (m, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$), 1.24 (m, 30H, CH_2), 3.20 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.86 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.03 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.52 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 5.63 (d, 1H, $J = 8\text{Hz}$, $\text{CH}(\text{C}5)$), 5.69 (d, 1H, $J = 6\text{Hz}$, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.66 (d, 1H, $J = 8\text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}6)$), 7.71 (d, 1H, $J = 9\text{Hz}$, NH)

^{13}C -NMR (CD_3OD): δ = 14.4 (CH_3), 22.7-31.9 (CH_2), 41.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 60.0 (CH_2NH), 61.8 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 85.6 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 89.8($\text{CH}(\text{C}2')$), 92.0($\text{CH}(\text{C}4')$), 95.5 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 143.2 ($\text{CH}(\text{C}6)$), 154.3 ($\text{C}(\text{C}2)$), 157.8 ($\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 167.1 ($\text{C}(\text{C}4)$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{28}\text{H}_{51}\text{N}_4\text{O}_6$ gef.: 539.3803

ber.: 539.3803

$S2'$ -(4-Methoxybenzyl)uridin 89 (OK 265)

1.60 g (7.10 mmol) Arabino- $O2,O2'$ -anhydrouridin **41**, 2.46 ml (17.70 mmol) 4-Methoxyphenylmethanthiol und 4.50 ml (35.90 mmol) $NI,NI,N3,N3$ - Tetramethylguanidin werden in 35 ml DMF für 30 min bei 120°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographisch Reinigung (40g Säule, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 91:9) 2.00 g eines farblosen Feststoff (5.23 mmol, 74%).

R_F -Wert = 0.15 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9/1)

^1H -NMR (CDCl_3): δ = 3.24 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.60 (m, 2H, CH_2), 3.56 (s, 3H, OCH_3) 3.61 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 3.97 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.10 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$) 5.44 (d, 1H, $J = 8\text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}5)$), 5.87 (d, 1H, $J = 9\text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}1')$), 6.66 (d, 2H, $J = 8.7\text{ Hz}$, (CH_{arom})), 7.08 (d, 2H, $J = 8.7\text{ Hz}$, (CH_{arom})) 7.47 (d, 1H, $J = 8\text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}6)$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 35.1 (CH_2), 52.5 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 54.4 (OCH_3), 61.8 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.5 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 86.3 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 89.9 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.3 ($\text{C}5$), 113.5 (C_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 130.2 (CH_{arom}), 141.9 ($\text{C}6$), 151.8 ($\text{C}2$), 158.8 ($\text{MeOC}_{\text{arom}}$), 164.1 ($\text{C}4$)

2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** (OK266)

1.70 g (4.50 mmol) *S*2'-(4-Methoxybenzyl)uridin **89** und 630 mg (6.75 mmol) Phenol werden in 20 ml TFA für 2 h unter Rückfluss in einem 50 ml Einhalskolben gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zweimal mit je 10 ml Acetonitril versetzt und wieder am Rotationsverdampfer eingeeengt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (300 g Säule, CHCl₃/EtOH 91:9 -> 7:1) 660 mg eines farblosen Feststoffes (2.50 mmol, 56 %).

R_F-Wert = 0.42 (CHCl₃/MeOH 4/1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.63 (m, 1H, CH (C2')), 3.80 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.13 (m, 1H, CH(C4')), 4.34 (m, 1H, CH(C3')), 4.45 (s, 1H, OH), 4.98 (s, 1H, OH), 5.69 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.03 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.92 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 10.28 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 45.8 (CH(C2')), 62.1 (CH₂(C5')), 72.7 (CH(C3')), 86.8 (CH(C4')), 90.2 (CH(C1')), 102.3 (C5), 140.6 (C6), 151.0 (C2), 162.9 (C4)

1-(3-Brom-2-(octadecyloxy)propoxy)octadecan **71** (OK269)

5.97 g (10.0 mmol) 2,3-Bis(octadecyloxy)propan-1-ol **117** und 2.70 g (10.6 mmol) PPh₃ werden in 80 ml Dichlormethan in einem 250 ml Einhalskolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach dem das Reaktionsgemisch mittels eines Eisbades auf 0°C abgekühlt ist, fügt man jenen 1.95 g (10.9 mmol) NBS hinzu und lässt es 24 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wird es zwischen 250 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (300 g Säule, CycH/EtOAc 12:1 -> 4:1) 4.55 g eines farblosen Feststoffes (6.91 mmol, 69 %). R_F-Wert = 0.25 (CycH/EtOAc 9:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6 Hz, CH₃), 1.25 (s, 60H, CH₂), 1.56 (m, 4H, OCH₂), 3.42 (m, 9H, CH₂+CH)

*S*2'-(2,3-bis(octadecyloxy)propanmercapto)uridin **70a** (OK 270)

500 mg (2.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 10 ml trockenem Acetonitril und 10 ml Dichlormethan in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.74 ml (10.0 mmol) DIPEA und 1.98 g (3.00 mmol) 1-(3-Brom-2-(octadecyloxy)propoxy)-octadecan **71** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 150 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1 -> 7:1) 0.22 g eines farblosen Feststoffes (0.27 mmol, 13%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.84 (t, 6H, J = 6 Hz, CH₃), 1.19 (s, 60H, CH₂), 1.52 (t, 2H, J = 7 Hz, CH₂), 2.55 (t, 2H, J = 7.5 Hz, CH), 3.42 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.76 (m, 7H, CH₂+CH), 3.98 (m, 1H, CH(C2')), 4.17 (m, 1H, CH(C4')),

4.30 (m, 1H, CH(C3')), 5.67 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.76 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.66 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 9.56 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.6-34.1 (CH₂), 53.9 (CH(C2')), 62.2 (CH₂(C5')), 71.4 (CH(C3')), 86.3 (CH(C4')), 91.4 (CH(C1')), 102.8 (C5), 142.3 (C6), 150.6 (C2), 163.4 (C4)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₈H₉₁N₂O₇S gef.: 839.6561

ber.: 839.6547

S2'-(Hexadec-1-ylmercapto)uridin **70b** (OK-268)

260 mg (1.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 5 ml trockenem Acetonitril in einen ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 0.85 ml (1.50 mmol) DIPEA und 0.45 ml (1.50 mmol) Hexadecylbromid **72** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 300 mg eines farblosen Feststoffes (0.62 mmol, 62%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.84 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃), 1.28 (s, 24H, CH₂), 1.53 (t, 2H, J = 7 Hz, CH₂), 2.50 (t, 2H, J = 7.5 Hz, CH₂), 3.40 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.88 (m, 1H, CH (C2')), 4.11 (m, 1H, CH(C4')), 4.30 (m, 1H, CH(C3')), 5.73 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.81 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.76 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 10.28 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.3 (CH₃), 22.6-34.1 (CH₂), 53.9 (CH(C2')), 62.2 (CH₂(C5')), 71.4 (CH(C3')), 86.3 (CH(C4')), 90.2 (CH(C1')), 102.8 (C5), 141.7 (C6), 150.8 (C2), 163.8 (C4)

Elementaranalyse für C₂₅H₄₄N₂O₅S: gef. C: 61.86, H: 8.51, N: 5.47, S: 6.16

ber. C: 61.95, H: 8.15, N: 5.78, S: 6.62

S2'-(d₃₃-Hexadec-1-ylmercapto)uridin **70c** (OK-268D)

260 mg (1.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin werden in 5 ml trockenem Acetonitril in einem ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 0.85 ml (1.50 mmol) DIPEA und 0.45 ml (1.5 mmol) d₃₃-Hexadecylbromid **73** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 300 mg eines farblosen Feststoffes (0.62 mmol, 62%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.40 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.88 (m, 1H, CH (C2')), 4.11 (m, 1H, CH(C4')), 4.30 (m, 1H, CH(C3')), 5.73 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.81 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.76(d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 10.28 (s, 1H, NH)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 53.9 (CH(C2')), 62.2 (CH_2 (C5')), 71.4 (CH(C3')), 86.3 (CH(C4')), 90.2 (CH(C1')), 102.8 (C5), 141.7 (C6), 150.8 (C2), 163.8 (C4)

1-Brom- d_{33} -hexadecan **73** (OK277)

410 mg (1.50 mmol) d_{33} -Hexadecanol und 450 mg (1.55 mmol) PPh_3 werden in 10 ml Dichlormethan in einem 25 ml Einhalskolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach dem das Reaktionsgemisch mittels eines Eisbades auf 0°C abgekühlt ist, fügt man jenen 350 mg (1.8 mmol) NBS hinzu und lässt es 24 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CycH/EtOAc 12:1 \rightarrow 4:1) 490 mg eines farblosen Feststoffes (1.45 mmol, 97 %).

R_F -Wert = 0.95 (CycH/EtOAc 4:1)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.7-32.6 (CH_2), 33.8 (BrCH_2), 70.5 (OCH_2), 70.9 (OCH_2), 71.7 (CH_2), 77.9 (OCH)

$S2'$ -(But-3-enylmercapto)uridin **70c** (OK-337)

1.15 g (4.25 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 20 ml trockenem Acetonitril in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 3.48 ml (6.00 mmol) DIPEA und 0.65 ml (6.4 mmol) But-1-en-4-ol **74** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) 270 mg eines farblosen Feststoffes (0.86 mmol, 20 %).

R_F -Wert = 0.33 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1)

^1H -NMR (CDCl_3): δ = 2.30 (m, 2H, CH_2), 2.64 (t, 2H, J = 7.2 Hz, CH_2), 3.51 (m, 1H, CH (C2')), 3.72 (m, 2H, CH_2 (C5')), 4.06 (s, 1H, CH(C4')), 4.36 (s, 1H, CH(C3')), 5.01 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.71 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 5.78 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.10 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 8.04 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 30.4 (CH_2), 33.94 (CH_2), 54.5 (CH(C2')), 61.6 (CH_2 (C5')), 72.1 (CH(C3')), 86.7 (CH(C4')), 88.4 (CH(C1')), 101.9 (CH5), 115.2 (CH_2), 136.3 (CH), 141.1 (CH6), 151.1 (C2), 164.5 (C4)

$S2'$ -(Farnesylmercapto)uridin **70e** (OK-336)

520 mg (3.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 10 ml trockenem Acetonitril in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.74 ml (3.00 mmol) DIPEA und 0.82 ml (3.00 mmol) Farnesylbromid **75** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische

Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) 570 mg eines farblosen Feststoffes (1.22 mmol, 61%).

R_F -Wert = 0.41 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1)

^1H -NMR (CDCl_3): δ = 1.28 (s, 24H, CH_2), 1.93 (m, 8H, CH_2), 3.08 (m, 2H, CH_2), 3.60 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.70 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 4.10 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.26 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 4.97 (m, 4H, CH-CH=CH), 5.71 (d, 1H, $J = 8$ Hz, $\text{CH}(\text{C}5)$), 5.86 (d, 1H, $J = 9$ Hz, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.78 (d, 1H, $J = 8$ Hz, $\text{CH}(\text{C}6)$), 10.37 (s, 1H, NH)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 17.3 (CH_3), 25.3 (CH_3), 26.3 (CH_2), 39.2-39.3 (CH_2), 52.7 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 61.9 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.4 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 86.0 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 88.9 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.4, (CH_5), 118.9 (CH), 123.5 (CH), 124.0 (CH), 130.8 (C), 135.3 (C), 140.4 (C), 141.4 (CH_6), 150.7 (C2), 162.3 (C4)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ gef.: 465.2417

ber.: 465.2423

4-(Pyrenyl)butan-1-ol (OK-308)

Zu einer Lösung von 600 mg (16.0 mmol) LiAlH_4 in einem 250 ml Dreihalskolben in 10 ml trockenem THF wird bei 0°C über ein Tropftrichter eine Lösung aus 580 mg (2.00 mmol) 4-(Pyren-2-yl)-butansäure in 50 ml trockenem THF langsam zugetropft. Das Eisbad wird entfernt und die Lösung für 4 h bei 60°C gerührt. Der Reaktionsfortschritt wird mittels DC verfolgt und bei Reaktionsende das Reaktionsgemisch wieder auf 0°C abgekühlt und mit 5 ml Wasser gequencht. Nach der Extraktion des Gemisches zwischen 50 ml Dichlormethan und 50 ml Brine wird die organische Phase über MgSO_4 getrocknet. Man erhält nach dem Einrotieren 570 mg eines farblosen Feststoffes (2.00 mmol, Quant.)

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) 1.71-1.96 (m, 4H), 3.37 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, PyrenCH_2), 3.69 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, HOCH_2), 8.31-7.81 (m, 9H, CH_{arom})

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 27.9 (CH_2), 32.7 (CH_2), 33.2 (CH_2), 62.8 (HOCH_2), 123.4-129.8 ($\text{CH}_{\text{arom}}/\text{C}_{\text{arom}}$)

2-(4-Brombutyl)pyren 76 (OK-310)

570 mg (2.00 mmol) 4-(Pyrenyl)butan-1-ol und 1.58 g (6.00 mmol) PPh_3 werden in einem 100 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 40 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und es werden 1.06 g (6.00 mmol) NBS hinzugeben. Die Lösung rührt über Nacht bei Raumtemperatur und anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1) erhält man 500 mg eines farblosen Feststoffes (1.50 mmol, 74%).

R_F -Wert = 0.98 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1)

S2'-(4-(Pyren-2-yl-)butylmercapto)uridin **70f** (OK-304)

260 mg (1.00 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69**, 500 mg (1.5 mmol) 2-(4-brombutyl)pyren **76** und 0.87 ml (1.5 mmol) DIPEA werden in 15 ml trockenem Acetonitril in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur rührt, entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, extrahiert den Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung, trocknet die organische Phase über MgSO₄ und filtriert den Feststoff ab. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CH₂Cl₂/MeOH; 10:1) erhält man 430 mg eines farblosen Feststoffes (0.83 mmol, 83%).

R_F-Wert = 0.23 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.63 (m, 4H, CH₂), 2.52 (m, 2H, SCH₂), 2.77 (m, 2H, PyrenCH₂), 3.97 (m, 3H, CH(C2') + CH₂(C5')), 3.80 (m, 1H, CH(C4')), 4.25 (m, 1H, CH(C3')), 5.72 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.88 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.77 (m, 2H, CH), 8.12 (m, 8H, CH), 10.6 (s, 1H, NH)

¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 29.0 (CH₂), 29.7 (CH₂), 30.7 (CH₂), 32.4 (CH₂), 53.9 (CH(C2')), 62.1 (CH₂(C5')), 71.2 (SCH₂), 72.3 (CH(C3')), 86.1 (CH(C4')), 90.4 (CH(C1')), 102.8 (C5), 123.2 – 132.3 (CH_{arom}/C_{arom}), 136.4 (C_{arom}), 141.8 (C6), 150.9 (C2), 159.8 (C_{arom}), 164.1 (C4)

6-(Hydroxyhexyl)-5-(dimethylamino)naphthalen-1-sulfonat (OK-305)

Eine Lösung aus 270 mg (1.00 mmol) Dansylchlorid und 360 mg (3.00 mmol) 1,6-Hexandiol werden in 10 ml trockenem CH₂Cl₂ (10 mL) und 0.25 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben über Nacht unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird anschließend zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CH₂Cl₂ -> CH₂Cl₂/MeOH; 10:1) erhält man 350 mg eines farblosen Feststoffes (1.00 mmol, Quant.)

¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.19 (m, 4H, CH₂), 1.40 (m 2H, CH₂), 1.60 (m, 2H, CH₂), 1.95 (s, 1H, OH), 2.89 (s, 6H, NCH₃), 3.53 (m, 2H, HOCH₂), 4.00 (t, 2H, J=6.2 Hz, SOCH₂), 7.6 (m, 2H, CH), 8.27 (d, 2H, J=6.2 Hz, CH), 8.60 (d, 1H, J = 8.1Hz, CH)

¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 25.0 (CH₂), 25.1(CH₂), 28.7 (CH₂), 32.6 (CH₂), 45.4 (NCH₃), 62.6 (OCH₂), 70.8 (SOCH₂), 115.5 (CH), 119.5 (CH), 123.1 (CH), 128.6 (CH), 129.8 (CH), 130.4 (C), 131.4 (C), 133.7 (C), 151.8 (C)

6-(Bromhexyl)-5-(dimethylamino)naphthalen-1-sulfonat **77** (OK-306)

350 mg (1.00 mmol) 6-(Hydroxyhexyl)-5-(dimethylamino)naphthalen-1-sulfonat und 790 mg (3.00 mmol) PPh₃ werden in einem 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 20 ml trockenem CH₂Cl₂ gelöst. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt und es werden 530 mg (3.00 mmol) NBS hinzugeben. Die Lösung rührt über Nacht bei Raumtemperatur und anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO₃-Lösung extrahiert, die organi-

sche Phase über MgSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1) erhält man 400 mg eines farblosen Feststoffes (0.95 mmol, 95%).

R_F -Wert = 0.98 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1)

^1H NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$ = 1.28 (m, 4H, CH_2), 1.64 (m 4H, CH_2), 2.91 (s, 6H, NCH_3), 3.26 (t, 2H, J = 6.8 Hz, BrCH_2), 4.01 (t, 2H, J = 6.2 Hz, SOCH_2), 7.6 (m, 2H, CH), 8.27 (d, 2H, J = 6.2 Hz, CH), 8.60 (d, 1H, J = 8.1 Hz, CH)

S2'-(6-Dansylhexylmercapto)uridin **70g** (OK 303)

130 mg (0.50 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69**, 420 mg (1.00 mmol) 6-(Bromhexyl)-5-(dimethylamino)naphthalen-1-sulfonat **77** und 0.43 ml (0.75 mmol) DIPEA werden in 10 ml trockenem Acetonitril in einem 50 ml Einhalskolben gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur rührte, entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, extrahiert den Rückstand zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung, trocknet die organische Phase über MgSO_4 und filtriert den Feststoff ab. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 20:1) erhält man 200 mg eines farblosen Feststoffes (0.33 mmol, 67%).

R_F -Wert = 0.37 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 9:1)

^1H NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$ = 1.53 (m, 8H, CH_2), 2.52 (m, 2H, SCH_2), 2.57 (s, 6H, NCH_3), 3.66 (m, 3H, CH ($\text{C2}'$) + CH_2 ($\text{C5}'$)), 3.80 (m, 1H, CH($\text{C4}'$)), 3.97 (t, 2H, J = 6.2 Hz, SOCH_2), 4.34 (m, 1H, CH($\text{C3}'$)), 5.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.88 (d, 1H, J = 9 Hz, CH($\text{C1}'$)), 7.6 (m, 2H, CH), 7.92 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 8.27 (d, 2H, J = 6.2 Hz, CH), 8.60 (d, 1H, J = 8.1 Hz, CH), 10.28 (s, 1H, NH)

^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm})$ = 26.1 (CH_2), 28.3 (CH_2), 28.5 (CH_2), 32.4 (CH_2), 33.8 (CH_2), 42.5 (NCH_3), 53.9 (CH($\text{C2}'$)), 62.1 (CH_2 ($\text{C5}'$)), 71.0 (SCH_2), 71.2 (SOCH_2), 72.3 (CH($\text{C3}'$)), 86.2 (CH($\text{C4}'$)), 89.6 (CH($\text{C1}'$)), 102.7 (C5), 115.5 (CH), 123.5 (CH), 124.7 (CH), 128.7 (CH), 129.8 (CH), 130.7 (C), 131.9 (C), 132.4 (C), 141.6 (C6), 150.9 (C2), 151.8 (C), 164.3 (C4)

2-Bromacetylcholesterol **78** (OK 344)

1.16 g (3.00 mmol) Cholesterol, 540 mg Bromessigsäure (3.90 mmol), 800 mg (3.90 mmol) DCC und 50 mg (0.40 mmol) DMAP werden in einem ausgeheizten 100 ml Schlenkkolben in 40 ml trockenem THF gelöst und 1½ h bei Raumtemperatur gerührt. Eine DC-Kontrolle zeigte den Reaktionsfortschritt an. Anschließend wird der ausgefallene Harnstoff abfiltriert und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CycH/EtOAc 3:1) 930 mg eines farblosen Feststoffes (1.83 mmol, 61%).

R_F -Wert = 0.83 (CycH/EtOAc ; 4:1)

^1H NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 0.63$ (s, 3H, CH_3), $0.85 - 0.91$ (m, 12H, CH_3), $1.01 - 2.03$ (m, 28H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 2.34 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz, $\text{O}-\text{CH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}=\text{CH}$), 3.80 (s, 2H, BrCH_2), 4.66 (m, 1H, $\text{O}-\text{CH}$), 5.39 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 20.1 - 56.6$ ($\text{CH}+\text{CH}_2+\text{CH}_3$), 76.1 (OCH), 123.1 ($\text{C}=\text{CH}$), 139.2 ($\text{CH}=\text{C}$), 166.6 ($\text{C}(\text{O})$)

Elementaranalyse für $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{BrO}_2$: gef.: C: 68.08, H: 9.22, Br: 15.06

ber.: C: 68.62, H: 9.33, Br: 15.74

$\text{S}2'-(2\text{-Cholesterylacetylmercapto})\text{uridin } \mathbf{70h}$ (OK 345)

310 mg (2.40 mmol) $2'$ -Thio- $2'$ -desoxyuridin **69** werden in 10 ml trockenem Acetonitril in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.10 ml (2.50 mmol) DIPEA und 930 mg (3.60 mmol) 2-Bromacetylcholesterol **78** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9:1$) 480 mg eines hellbraunen Feststoffes (0.70 mmol, 29 %).

R_F -Wert = 0.20 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 9:1$)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.63$ (s, 3H, CH_3), $0.85 - 0.91$ (m, 12H, CH_3), $1.01 - 2.03$ (m, 28H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 2.34 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz, $\text{O}-\text{CH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}=\text{CH}$), 3.36 (m, 2H, SCH_2), 3.48 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 3.72 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 4.23 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.36 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 4.66 (m, 1H, $\text{O}-\text{CH}$), 4.97 (m, 1H, $\underline{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}$), 5.39 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$), 5.71 (d, 1H, $J = 8$ Hz, $\text{CH}(\text{C}5)$), 5.86 (d, 1H, $J = 9$ Hz, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.78 (d, 1H, $J = 8$ Hz, $\text{CH}(\text{C}6)$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.1 - 42.2$ ($\text{CH}+\text{CH}_2+\text{CH}_3$), 54.1 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 62.8 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.4 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 76.3 (OCH), 86.3 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 91.3 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.9 , ($\text{CH}5$), 123.2 ($\text{C}=\text{CH}$), 139.0 ($\text{CH}=\text{C}$), 142.1 ($\text{CH}6$), 150.5 ($\text{C}2$), 162.3 ($\text{C}4$), 170.5 ($\text{C}(\text{O})$)

Elementaranalyse für $\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$: gef.: C: 66.05, H: 8.11, N: 4.08, S: 4.14

ber.: C: 66.44, H: 8.51, N: 4.08, S: 4.67

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{38}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$: gef.: 687.4022

ber.: 687.4043

Phytanol (OK 385)

15.0 g frisch aktiviertes Raney-Nickel werden in einem 250 ml Einhalskolben in 150 ml MeOH suspendiert. Nach der Zugabe von 25.0 ml (71.8 mmol) Phytol lässt man das Reaktionsgemisch für 72 h unter Wasserstoffatmosphäre (1bar) rühren. Der Katalysator wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 21.4 g eines farblosen Öles (71.8 mmol, Quant.).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.85 (m, 15H, CH_3), 1.06–1.63 (m, 24H, CH_2/CH), 3.66 (m, 2H, OCH_2)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$ = 19.6 (CH_3), 19.7 (CH_3), 19.8 (CH_3), 22.6 (CH_3), 22.7 (CH_3), 24.3 (CH_2), 24.4 (CH_2), 24.8 (CH_2), 27.9 (CH), 29.5 (CH), 32.7 (CH), 37.2–37.4 (CH_2), 39.9 (CH_2), 61.1 (HOCH_2)

Phytanylbromid **79** (OK 397)

2.98 g (10.0 mmol) Phytanol und 2.70 g (10.60 mmol) PPh_3 werden in 80 ml trockenem Dichlormethan in einem 250 ml Einhalskolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nachdem das Reaktionsgemisch mittels eines Eisbades auf 0°C abgekühlt ist, fügt man jenen 1.95 g (10.9 mmol) NBS hinzu und lässt es 18 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, Cych/EtOAc 4:1) 3.28 g eines farblosen Feststoffes (9.10 mmol, 91 %).

R_F -Wert = 0.25 (Cych/EtOAc 90:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.81–0.89 (m, 15H, CH_3), 1.09 – 1.88 (m, 24H, CH_2/CH), 3.42 (m, 2H, BrCH_2)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$ = 19.6 (CH_3), 19.7 (CH_3), 19.8 (CH_3), 22.6 (CH_3), 22.7 (CH_3), 24.3 (CH_2), 24.4 (CH_2), 24.8 (CH_2), 27.9 (CH), 31.7 (CH), 32.0 (BrCH), 32.7 (CH), 36.8–37.4 (CH_2), 39.4 (CH_2), 40.1 (CH_2)

S_2' -(2-Phytanylmercapto)uridin **70i** (OK-398)

520 mg (2.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 20 ml trockenem Acetonitril in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 1.75 ml (10.0 mmol) DIPEA und 1.10 g (3.00 mmol) Phytanylbromid **79** rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend wird es zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) 460 mg eines hellbraunen Feststoffes (0.85mmol, 42 %).

R_F -Wert = 0.63 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 9:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.81–0.89 (m, 15H, CH_3), 1.09 – 1.88 (m, 24H, CH_2/CH), 2.58 (m, 2H, S-CH_2), 3.06 (s, 1H, OH), 3.29 (s, 1H, OH), 3.81 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.96 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}2')$), 4.33 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.35 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.60 (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}5)$), 5.77 (d, 1H, $J = 9 \text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.58 (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{C}6)$), 9.25 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 19.1–39.3 ($\text{CH}+\text{CH}_2+\text{CH}_3$), 53.8 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 62.8 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.4 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 86.4 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 92.1 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.9, ($\text{CH}5$), 142.5 ($\text{CH}6$), 150.4 ($\text{C}2$), 163.1 ($\text{C}4$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{29}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ gef.: 541.3668

ber.: 541.3669

SS2'-(Octadecyldisulfanyl)uridin **90** (OK 273)

780 mg (3.00 mmol) 2'-Thio-2'-desoxyuridin **69** werden in 80 ml trockenem THF in einem ausgeheizten 250 ml Schlenkkolben gelöst. Nach der Zugabe von 0.85 ml (1.50 mmol) DIAD rührt das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Anschließend werden 17.2 g (60.0 mmol) Octadecanthiol hinzugefügt und alles für 72 h unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Nachdem das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt ist, erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CHCl₃/MeOH 9:1) 400 mg eines farblosen Feststoffes (0.73 mmol, 25%).

R_F-Wert = 0.35 (CHCl₃/MeOH 9:1)

¹H-NMR (DMSO-d₆/CDCl₃): δ = 0.75 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃), 1.12 (s, 28H, CH₂), 1.55 (t, 2H, J = 6.2 Hz, CH₂), 2.50 (m, 2H, SSCH₂), 3.68 (m, 4H, CH(C4') + CH(C2') + CH₂(C5')), 4.34 (m, 1H, CH(C3')), 5.60 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.02 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (DMSO-d₆/CDCl₃): δ = 13.7 (CH₃), 22.4-31.6 (CH₂), 38.9 (SSCH₂), 58.6 (CH(C2')), 61.7 (CH₂(C5')), 72.2 (CH(C3')), 86.5 (CH(C4')), 90.1 (CH(C1')), 102.5 (C5), 141.6 (C6), 150.8 (C2), 164.1 (C4)

Elementaranalyse für C₂₇H₄₈N₂O₅S₂: gef. C: 60.04, H: 8.94, N: 5.16, S: 10.94

ber. C: 59.92, H: 8.88, N: 5.14, S: 11.77

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₂₇H₄₉N₂O₅S₂ gef.: 545.2940

ber.: 545.2932

Octadecylsulfenylchlorid (OK-327)

1.50 g (11.0 mmol) NCS werden in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff unter Argonatmosphäre suspendiert und innerhalb von 1 h eine Lösung von 2.86 g (10.0 mmol) Octadecylthiol hinzugegeben. Nach weiteren 30 min wird der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 3.21 g eines gelben Feststoffes, welches laut NMR eine Mischung aus 67% Produkt und 33% Disulfid besteht.

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.88 (t, 3H, J = 7 Hz, CH₃), 1.26 (s, 28H, CH₂), 1.43 (m, 2H, CH₂), 1.67 (q, 2H, J = 7.4 Hz, J = 6.6 Hz, SSCH₂CH₂), 1.77 (q, 2H, J = 7.4 Hz, J = 6.6 Hz, ClSCH₂CH₂), 2.67 (t, 2H, J = 7.2 Hz, ClSCH₂), 3.11 (t, 2H, J = 7.2 Hz, SSCH₂)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.7 (CH₃-CH₂), 29.5 (CH₂), 31.9 (SCH₂CH₂), 39.2 (ClSCH₂), 41.5 (SSCH₂)

SS2'-(Octadecyldisulfanyl)uridin **90** (OK 328)

570 mg (1.50 mmol) S2'-(4-Methoxybenzylmercapto)uridin **89** in 20 ml CH₂Cl₂ und 2.41 g (7.5 mmol) Octadecylsulfenylchlorid in 20 ml in Dichlormethan werden vorsichtig in einem 500 ml Dreihalskolben gleichzeitig einer Lösung aus 65 ml Dichlormethan und 65 ml Eisessig bei 0°C hinzugegeben. Der Reaktionsfortschritt wird mittels DC verfolgt und zeigt einen vollständigen Umsatz nach 62 h an. Das Lösungsmittel wird am Rotations-

verdampfer entfernt und der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (120g Säule, CHCl₃ -> CHCl₃/MeOH, 9:1) Man erhält 300 mg eines farblosen Feststoffes (0.55 mmol, 37%).

¹H-NMR (DMSO-d₆/CDCl₃): δ = 0.75 (t, 3H, J = 6 Hz, CH₃), 1.12 (s, 28H, CH₂), 1.55 (t, 2H, J = 6.2 Hz, CH₂), 2.50 (m, 2H, SSCH₂), 3.68 (m, 4H, CH(C4') + CH (C2') + CH₂ (C5')), 4.34 (m, 1H, CH(C3')), 5.60 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.02 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (DMSO-d₆/CDCl₃): δ = 13.7 (CH₃), 22.4-31.6 (CH₂), 38.9 (SSCH₂), 58.6 (CH(C2')), 61.7 (CH₂(C5')), 72.2 (CH(C3')), 86.5 (CH(C4')), 90.1 (CH(C1')), 102.5 (C5), 141.6 (C6), 150.8 (C2), 164.1 (C4)

SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)uridin **92** (OK 406)

1.20 g (3.50 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69** werden in einem 100 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 50 ml trockenem THF gelöst und die Lösung im Ultraschallbad unter leichten Argonstrom entgast. Nach der Zugabe von 680 mg (3.85 mmol) PTAD lässt man die tiefrote Lösung solange bei 40°C rühren, bis die Farbe verblasst ist. Anschließend gibt man 2.80 g (7.00 mmol) 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** hinzu und lässt das Reaktionsgemisch 24 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 1.70 g eines gelbbraunen Feststoffes (2.63 mmol, 75%).

R_F-Wert = 0.36 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.28 (s, 12H, CH₂), 1.56 (m, 4H, CH₂), 1.84 (m, 2H, CH₂), 2.66 (t, 2H, J = 7.2 Hz, SSCH₂), 3.34 (t, 2H, J = 7.7 Hz, PyrenCH₂), 3.77 (m, 3H, CH (C2') + CH₂ (C5')), 4.10 (m, 1H, CH(C4')), 4.48 (m, 1H, CH(C3')), 5.80 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.00 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.44 - 8.14 (m, 9H, CH(C6) + CH_{arom}), 10.4 (s(b), 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 28.3 - 31.8 (CH₂), 36.3 (PyrenCH₂), 39.1 (SSCH₂), 58.4 (CH(C2')), 61.9 (CH₂(C5')), 73.2 (CH(C3')), 86.2 (CH(C1')), 86.2 (CH(C4')), 103.2 (C5), 123.4 - 131.4 (C/CH_{arom}), 142.3 (CH6), 153.8 (C2), 164.1 (C4)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₃₆H₄₃N₂O₅S₂ gef.: 647.2606

ber.: 647.2613

SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)uridin **92** (OK 375)

230 mg (0.60 mmol) 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** werden in einem 50ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 15 ml trockenem Acetonitril gelöst. Dazu tropft man eine Lösung aus 80 mg (0.48 mmol) PTAD in 5 ml Acetonitril hinzu und lässt die tiefrote Lösung solange bei 40°C rühren, bis die Farbe verblasst ist. Nach der Zugabe von 145 mg (0.55 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69** lässt man das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Der entstandene ockerfärbende Feststoff (S2',S2''-Bis(disulfididyl)uridin, 140 mg) wird abfiltriert und das Filtrat NMR-spektroskopisch untersucht. Es konnten nur das Disulfidnebenprodukt des 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan nachgewiesen werden.

¹H-NMR *S2',S2''*-Bis(disulfididyl)uridin **89** (CD₃OD): δ = 3.71 (m, 1H, CH (C2')), 3.75 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.00 (m, 1H, CH(C4')), 4.38 (m, 1H, CH(C3')), 5.65 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.85(d, 1H, J = 8 Hz, CH(C1')), 7.91 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR *S2',S2''*-Bis(disulfididyl)uridin **89** (CD₃OD): δ = 47.7 (CH(C2')), 62.5 (CH₂(C5')), 73.3 (CH(C3')), 87.8 (CH(C1')), 89.8 (CH(C4')), 103.2 (C5), 142.3 (C6), 152.2 (C2), 165.6 (C4)

SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)uridin 92 (OK 351)

150 mg (0.38 mmol) 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** werden in einem ausgeheizten 25ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 5 ml trockenem CH₂Cl₂ gelöst. Dazu tropft man eine Lösung aus 60 mg (0.36 mmol) PTAD in 3 ml Acetonitril hinzu und lässt die tiefrote Lösung solange bei 40°C rühren, bis die Farbe verblasst ist. Nach der Zugabe von 100 mg (0.40 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69** lässt man das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Der entstandene ockerfärbende Feststoff wird abfiltriert und der Rest NMR-spektroskopisch untersucht. Es konnten nur die Disulfidnebenprodukte nachgewiesen werden.

SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)uridin 92 (OK 389)

740 mg (2.86 mmol) 2'-Thio-2'-Desoxyuridin **69** werden in einem 100 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 15 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Dazu tropft man eine Lösung aus 490 mg (2.86 mmol) PTAD in 10 ml DMF hinzu und lässt die tiefrote Lösung über Nacht bei 40°C rühren, bis die Farbe verblasst ist. Nach der Zugabe von 380 mg (1.00 mmol) 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** lässt man das Reaktionsgemisch 72 h bei Raumtemperatur rühren. Es konnten nur die Disulfidnebenprodukte nachgewiesen werden.

11-Brom-1-(pyrenyl)undecan-1-on 94 (OK 339)

3.34 g (12.6 mmol) 11-Bromundecansäure werden in 2 ml (30.0 mmol) SOCl₂ in einem 50 ml Schlenkkolben über Nacht gerührt. Anschließend fügt man der Reaktionsmischung eine Lösung aus 2.47 g (12.2 mmol) Pyren in 20 ml trockenem Dichlormethan hinzu und kühlt auf 0°C ab. Nach der vorsichtigen Zugabe von 1.91 g (14.2 mmol) wasserfreien AlCl₃ lässt man die grüne Suspension zuerst für 1 h bei Raumtemperatur und dann 2 h unter Rückfluss rühren. Die Reaktion wird beendet, in dem man das Gemisch auf Eis gießt und nach 30 min mit 500 ml Dichlormethan und 50 ml einer 2N HCl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CycH/EtoAc 4:1) erhält man 5.53 g eines roten Öles (12.2 mmol, Quant).

R_F-Wert = 0.60 (CycH/EtoAc 4:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 1.21 (s, 8H, CH₂), 1.32 (m, 6H, CH₂), 1.74 (m, 4H, CH₂), 3.11 (t, 2H, J=7.7 Hz, C(O)CH₂), 3.32 (t, 2H, J = 6.9 Hz, BrCH₂), 7.91-8.20 (m, 7H, CH_{arom}), 8.80 (d, 1H, J = 9.3 Hz, CH_{arom})

¹³C NMR (CDCl₃) = δ(ppm) 28.2-29.8 (CH₂), 32.9 (CH₂), 34.1 (BrCH₂), 53.5 (C(O)CH₂), 123.6 – 131.1 (C/CH_{arom}), 205.3 (C(O))

Elementaranalyse für $C_{27}H_{29}BrO$: ber.. C: 71.90, H: 6.78, Br: 17.59

gef. C: 72.16, H: 6.50, Br: 17.78

N-(11-Brom-1-(pyren-1-yl)undecyliden)-4-methylbenzulfonhydrazid **95** (OK 340)

450 mg (1.00 mmol) 11-Brom-1-(pyrenyl)undecan-1-on **94** werden zusammen mit 380 mg (2.00 mmol) Tosylhydrazin und einer katalytischen Menge Dowex 50 in einem 50 ml Einhalskolben in 20 ml Benzol für 14 h unter Rückfluss mit Wasserabscheider gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (80g Säule, CycH/EtOAc 4:1) 610 mg eines gelben Feststoffes (1.00 mmol, Quant).

R_F -Wert = 0.34 (CycH/EtOAc 4:1)

1H NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) = 1.21 (s, 8H, CH_2), 1.32 (m, 6H, CH_2), 1.54 (m, 2H, CH_2), 1.80 (m, 4H, CH_2), 2.52 (s, 3H, CH_3), 2.70 (t, 2H, $J = 7.7$ Hz, $C(=N)-CH_2$), 3.35 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, $BrCH_2$), 7.26-8.20 (m, 7H, CH_{arom}), 8.80 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz, CH_{arom})

^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) = 20.8 (CH_3), 28.2-29.8 (CH_2), 32.9 (CH_2), 34.1 ($BrCH_2$), 39.1 ($C(O)CH_2$), 123.6 – 131.1 (C/CH_{arom}), 143.7 (CS), 158.1 (CMe), 170.9 ($C(=N)$)

2-(11-(Pyren-2-yl)undecyl)thiouronium **96** (OK-342)

600 mg (0.97 mmol) *N*-(11-Brom-1-(pyren-1-yl)undecyliden)-4-methylbenzulfonhydrazid **95** werden in einem 50 ml Einhalskolben in 20 ml Eisessig gelöst. Zu der grünen Suspension werden 300 mg (5.00 mmol) $NaCNBH_3$ zugegeben und für 2 h bei 80°C gerührt. Die nun rote Lösung wird auf Eiswasser gegossen und mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird anschließend mit 50 ml einer gesätt. $NaHCO_3$ -Lösung extrahiert, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH -> CycH/EtOAc 50:1) erhält man 440 mg eines gelben Feststoffes, welches in 20 ml 95% Ethanol in einem 50 ml Einhalskolben gelöst werden. Nach der Zugabe von 300 mg (4.00 mmol) Thioharnstoff fällt ein Feststoff aus. Der Kolben wird über Nacht in den Kühlschrank gestellt und der Feststoff abfiltriert. Jedoch konnte kein Produkt isoliert werden.

1-(11-Bromundecyl)pyren **97** (OK-324)

1.61 g (8.00 mmol) Pyren und 1.06 g (4.00 mmol) 11-Bromundecansäure werden in 15 ml trockenem 1,2-Dichlorethan in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 0.54 ml (4.80 mmol) $SiMe_2Cl$ und 265 mg (1.20 mmol) $InCl_3$ wird das Reaktionsgemisch erst 1 h bei Raumtemperatur und anschließend 8 h bei 80°C gerührt. Dabei färbte sich die Lösung von gelb über orange und braun nach dunkelrot. Nachdem sich diese wieder abgekühlt hat, tropft man ihr weitere 1.36 ml (12.0 mmol) $SiMe_2Cl$ und lässt das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen Dichlormethan und Wasser extrahiert, die organische Phase über

MgSO₄ getrocknet und wieder eingeeengt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (240g Säule, CycH/Toluol 10:1->CycH->CycH/EtOAc 4:1) erhält man 525 mg eines gelben Feststoffes (1.20 mmol, 30%).

R_F-Wert = 0.81 (CycH/EtOAc 4:1)

¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 1.32 (s, 10H, CH₂), 1.42 (m, 4H, CH₂), 1.54 (m, 2H, CH₂), 1.89 (m, 2H, CH₂), 3.44 (t, 2H, J=6.9 Hz, BrCH₂), 3.88 (t, 2H, J=7.7 Hz, PyrenCH₂), 7.38 (m, 1H, CH_{arom}), 7.91-8.20 (m, 8H, CH_{arom})

¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 28.2-29.8 (CH₂), 32.0 (CH₂), 32.9 (CH₂), 33.7 (PyrenCH₂), 34.2 (BrCH₂), 123.6 – 131.1 (C/CH_{arom})

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₂₇H₃₁Br gef.: 434.1608

ber.: 434.1609

1-(11-Bromundecyl)pyren **97** (OK 343)

900 mg (2.00 mmol) 11-Brom-1-(pyrenyl)undecan-1-on **94** werden in einem 50 ml Schlenkkolben in 10 ml CCl₄ gelöst. Nach der Zugabe von 1 mL TFA und 0.81 ml (15.0 mmol) Et₃SiH rührt die grüne Lösung für 5 d. Da immer noch kein vollständiger Umsatz mittels DC festgestellt worden ist, werden weitere 3 ml TFA und 1.62 ml (30.0 mmol) Et₃SiH dem Reaktionsgemisch beigelegt und weitere 5 d gerührt. Anschließend neutralisiert man die Lösung mit 5 ml einer 2N NaOH-Lösung, entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, extrahiert den Rückstand zwischen 50 ml Dichlormethan und 50 ml Wasser und trocknet die organische Phase über MgSO₄. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (240g Säule, CycH -> CycH/EtOAc 40:1) erhält man 500 mg eines gelben Feststoffes (1.15 mmol, 57%).

R_F-Wert = 0.81 (CycH/EtOAc 4:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 1.28 (s, 10H, CH₂), 1.43 (m, 6H, CH₂), 1.84 (m, 2H, CH₂), 3.33 (t, 2H, J = 6.9 Hz, BrCH₂), 3.38 (t, 2H, J = 7.7 Hz, PyrenCH₂), 7.26 (m, 1H, CH_{arom}), 7.85-8.30 (m, 8H, CH_{arom})

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 28.2-29.8 (CH₂), 31.9 (CH₂), 32.8 (CH₂), 33.6 (PyrenCH₂), 34.1 (BrCH₂), 123.5 – 131.4 (C/CH_{arom})

Elementaranalyse für C₂₇H₃₁Br: gef. C: 72.35, H: 7.09, Br: 18.30

ber. C: 74.47, H: 7.18, Br: 18.35

11-Thioacetyl-1-(pyrenyl)undecan **98** (OK 346)

900 mg (2.07 mmol) 11-Brom-1-(pyrenyl)undecan **97** werden unter Argonatmosphäre in einem ausgeheizten 100 ml Schlenkkolben in 30 ml trockenem THF gelöst, Nach der Zugabe von 480 mg (4.14 mmol) KSAc, lässt man das Reaktionsgemisch für 16 h unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss rühren. Das Lösungsmittel wird anschließend am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen 50 ml Dichlormethan und 20 ml Brine extrahiert und die rotbraune organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (80g Säule, CycH/EtOAc 10:1) erhält man 830 mg eines gelben Feststoffes (1.90 mmol, 92%).

R_F-Wert = 0.73 (CycH/EtOAc 4:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 1.28 (s, 12H, CH₂), 1.43 (m, 4H, CH₂), 1.84 (m, 2H, CH₂), 2.36 (s, 3H, CH₃), 2.87 (t, 2H, J = 7.2 Hz, SCH₂), 3.34 (t, 2H, J = 7.7 Hz, PyrenCH₂), 7.26 (m, 1H, CH_{arom}), 7.85-8.30 (m, 8H, CH_{arom})

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 28.7-29.8 (CH₂), 30.6 (CH₃), 31.9 (S-CH₂), 33.6 (PyrenCH₂), 123.5 – 131.4 (C/CH_{arom}), 196.0 (C(O))

11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** (OK 348)

1.00 g (2.40 mmol) 11-Thioacetyl-1-(pyrenyl)undecan **98** werden in einem 250 ml Einhalskolben in 80 ml 1-Butanol gelöst. Nach der Zugabe von 640 mg (16.8 mmol) NaOH, lässt man das Reaktionsgemisch für 3½ h unter Rückfluss rühren. Das Lösungsmittel wird anschließend am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen 100 ml Essigester und 50 ml Brine extrahiert und die orangebraune organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 10:1) erhält man 590 mg eines gelben Feststoffes (1.52 mmol, 64%). Jedoch ist dies ein Gemisch aus dem Disulfid und dem Thiol im Verhältnis 4:6.

R_F-Wert = 0.90 (CycH/EtOAc 4:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 1.28 (s, 12H, CH₂), 1.43 (m, 4H, CH₂), 1.84 (m, 2H, CH₂), 2.51(q, 2H, J = 5.4 Hz, HSCH₂), 2.67 (t, 2H, J = 7.2 Hz, SSCH₂), 3.34 (t, 2H, J = 7.7 Hz, PyrenCH₂), 7.85-8.30 (m, 8H, CH_{arom})

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 28.7-29.8 (CH₂), 33.9 (HSCH₂), 34.0 (PyrenCH₂), 39.2 (SSCH₂), 123.5 – 131.4 (C/CH_{arom})

11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** (OK 372)

590 mg (0.76 mmol) des Gemisches aus 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** und 1-(pyrenyl)undecandisulfid **99** werden in einem 50 ml Schlenkkolben in 10 ml Dichlormethan gelöst. Nach der Zugabe von 120 mg (0.76 mmol) DTT, lässt man das Reaktionsgemisch für 10 min im Ultraschallbad unter einen leichten Argonstrom entgasen und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen Cyclohexan und Methanol extrahiert. Es konnte aber mittels NMR keine Veränderung im Verhältnis zwischen Thiol und Disulfid nachgewiesen werden.

11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** (OK 372-2)

590 mg (0.76 mmol) des Gemisches aus 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** und 1-(pyrenyl)undecandisulfid **99** werden in einem 50 ml Schlenkkolben in 10 ml Dichlormethan gelöst, Nach der Zugabe von 120 mg (0.76 mmol) DTT und 0.3 ml Triethylamin, lässt man das Reaktionsgemisch für 10 min im Ultraschallbad unter einen leichten Argonstrom entgasen und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen Cyclohexan und Methanol extrahiert. Es konnte aber mittels NMR keine Veränderung im Verhältnis zwischen Thiol und Disulfid nachgewiesen werden.

11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** (OK 387)

540 mg (0.75 mmol) des Gemisches aus 11-Thio-1-(pyrenyl)undecan **91** und 1-(pyrenyl)undecandisulfid **99** werden in einem 50 ml Schlenkkolben in 40 ml trockenen DMF gelöst. Nach der Zugabe von 500 mg (3.00 mmol) DTT lässt man das Reaktionsgemisch für 10 min im Ultraschallbad unter einen leichten Argonstrom entgasen und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand zwischen Cyclohexan und Methanol extrahiert. Es konnte aber mittels NMR keine Veränderung im Verhältnis zwischen Thiol und Disulfid nachgewiesen werden.

2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** (OK 357)

470 mg (18.0 mmol) LiF werden in einem 100 ml Einhalskolben in 20 ml trockenem DMF suspendiert und auf 105°C erwärmt. Zur dem Reaktionsgemisch gibt man 10 ml TMEDA und 2.4 ml (18.0 mmol) Me₃SiN₃ und nach weiteren 30 min rühren 2.26 g (10.0 mmol) Arabino-O2,O2'-anhydrouridin **47** hinzu. Nachdem die Suspension für 48 h bei 110°C rührt, entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und gibt zu dem Rückstand 5 ml MeOH und 20 ml EtOAc hinzu. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und die Lösung eingeeengt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (40g Säule, EtOAc/MeOH 5:1) erhält man 1.55 g eines gelben Feststoffes (5.75 mmol, 58%).

R_F-Wert = 0.73 (EtOAc/MeOH 5:1)

¹H NMR (DMSO-d₆) δ(ppm) = 3.91 (m, 1H, CH(C4')), 4.03 (m, 1H, CH(C2')), 4.29 (m, 1H, CH(C3')), 5.27 (s, 1H, OH), 5.86 (d, 1H, J = 8 Hz, (CH5)), 6.05 (d, 1H, J = 4.2 Hz (CH1')), 7.86 (d, 1H, J = 8 Hz, (CH6)), 11.42 (s(b), 1H, NH)

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ(ppm) = 60.2 (CH₂(C5')), 64.6 (CH(C1')), 70.4 (CH(C2')), 85.2 (CH(C3')), 85.6 (CH(C4')), 102.0 (CH(CH5)), 140.1 (CH(CH6)), 150.4 (C(C4)), 163.3 (C(C2))

2-Propargylcholesterol **109** (OK 377)

8.20 g (21.2 mmol) Cholesterol und 50 mg TBAB werden in einem 250 ml Einhalskolben in 75 ml THF gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach der Zugabe von 7.00 ml einer 50%igen KOH-Lösung und nach weiteren 5 min 4.57 ml (23.0 mmol) einer Lösung von 80wt% Propargylbromid in THF rührt das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand zwischen 500 ml CH₂Cl₂ und 100 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und eingeeengt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung (800 g Säule, CycH/EtOAc 4:1) erhält man 1.70 g eines gelben Feststoffes (4.00 mmol, 19%).

R_F-Wert = 0.84 (CycH/EtOAc 4:1)

^1H NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 0.63$ (s, 3H, CH_3), $0.85 - 0.91$ (m, 12H, CH_3), $1.01 - 2.03$ (m, 22H, $\text{CH} + \text{CH}_2$), 2.34 (m, 2H, $\text{O}-\text{CH}-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}=\text{CH}$), 2.39 (s, 1H, CCH), 3.36 (m, 1H, OCH), 4.18 (d, 2H, $J = 2.4$ Hz, OCHCC), 5.39 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, $\text{C}=\text{CH}$)

^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 20.1 - 42.2$ ($\text{CH} + \text{CH}_2 + \text{CH}_3$), 50.1 (CH), 55.0 ($\underline{\text{CCH}_2\text{O}}$), 56.1 (CH), 56.7 (CH), 73.7 ($\underline{\text{CCH}}$), 78.1 (O-CH), 80.4 ($\underline{\text{CCH}}$), 121.8 ($\text{C}=\text{CH}$), 140.5 ($\text{CH}=\text{C}$)

N2'-(4-(Cholesterylloxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)uridin 106a (MF 48)

1. Ansatz:

170 mg (0.40 mmol) 2-Propargylcholesterol **109** werden zu 8.00 ml (0.40 mmol) einer 0.05 M Lösung von 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.80 ml Wasser versetzt. Ein mit konz. Salpetersäure behandelter Kupferdraht wurde hinzugegeben. Die Lösung wurde zusammen mit dem Kupferdraht 1 h bei 35°C gerührt. Danach wurde der Draht entfernt und bei 35°C gerührt. Nach 72 h wurde mittels DC kein Umsatz festgestellt.

2. Ansatz:

170 mg (0.40 mmol) 2-Propargylcholesterol **109** werden zu 8.00 ml (0.4 mmol) einer 0.05 M Lösung von 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.80 ml Wasser versetzt. 5 mg (0.03 mmol) CuI werden hinzugegeben. Die Lösung wird 48 h bei 35°C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1). Man erhält 60 mg eines farblosen Feststoffes (0.09 mmol, 23 %).

R_F -Wert = 0.36 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1)

3. Ansatz:

170 mg (0.40 mmol) 2-Propargylcholesterol **109** werden zu 8.00 ml (0.40 mmol) einer 0.05 M Lösung von 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.80 ml Wasser versetzt. 380 mg (2.00 mmol) CuI werden hinzugegeben. Die Lösung wird 48 h bei 35°C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1). Man erhält 180 mg eines farblosen Feststoffes (0.21 mmol, 69 %).

R_F -Wert = 0.36 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1)

4. Ansatz:

140 mg (0.50 mmol) 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** und 210 mg (0.50 mmol) 2-Propargylcholesterol **109** werden in einen 25 ml Einhalskolben in einen Gemisch von 6 ml THF und 6 ml Wasser suspendiert. Nach der Zugabe von 40 mg (0.20 mmol) Natriumascorbat und 15 mg (0.10 mmol) Kupfersulfat lässt man das Reaktionsgemisch über Nacht rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 5:1). Man erhält 180 mg eines farblosen Feststoffes (0.26 mmol, 52 %).

R_F -Wert = 0.36 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; 10:1)

¹H-NMR (CD₃OD): δ = 0.53 (s, 3H, CH₃), 0.71 – 0.86 (m, 12H, CH₃), 1.01 – 2.03 (m, 28H, CH+CH₂), 2.34 (d, 2H, J = 7.5 Hz, O-CH-CH₂-C=CH), 3.21 (m, 1H, OCH), 3.72 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.15 (s, 1H, CH(C4')), 4.41 (s, 1H, CH(C3')), 4.50 (s, 2H, OCH₂), 5.22 (d, 1H, J = 3.6 Hz, C=CH), 5.27 (m, 1H, CH (C2')), 5.61 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5')), 6.45 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 7.88 (s, 1H, NCH), 7.92 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CD₃OD): δ = 20.1 – 42.2 (CH+CH₂+CH₃), 60.8 (OCH₂), 61.1 (CH₂(C5')), 65.6 (CH(C2')), 70.7 (CH(C3')), 79.1 (OCH), 85.8 (CH(C4')), 86.5 (CH(C1')), 102.8, (CH5), 121.8 (C=CH), 140.3 (CH6), 144.7 (CH=C), 150.5 (C2), 163.8 (C4)

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₃₉H₆₀N₅O₆ gef.: 694.4470

ber.: 694.4538

N2'-(4-(Decyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)uridin **106c** (MF 49)

1. Ansatz:

0.09 ml (0.40 mmol) 1-Dodecin **108** werden zu 4 ml einer 0.1 M Lösung (0.40 mmol) von 2'-Azido-2'-deoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.4 ml Wasser versetzt. Ein mit konz. Salpetersäure behandelter Kupferdraht wird hinzugegeben. Die Lösung wird zusammen mit dem Kupferdraht 1 h bei 35 °C gerührt. Danach wird der Draht entfernt und das Reaktionsgemisch 72 h bei 35 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (40 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) gereinigt. Man erhält 10 mg eines farblosen Feststoffes (0.02 mmol, 6 %).

R_F-Wert = 0.62 (CH₂Cl₂/MeOH 10:1)

2. Ansatz:

0.09 ml (0.40 mmol) 1-Dodecin **108** werden zu 4 ml einer 0.1 M Lösung (0.40 mmol) von 2'-Azido-2'-deoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.4 ml Wasser versetzt. 30 mg (0.16 mmol) CuI werden hinzugegeben. Die Lösung wird für 72 h bei 35 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (40 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) gereinigt. Man erhält 100 mg eines farblosen Feststoffes (0.23 mmol, 57 %).

R_F-Wert = 0.62 (CH₂Cl₂/MeOH 10:1)

3. Ansatz:

190 mg (0.70 mmol) 2'-Azido-2'-desoxyuridin **100** und 0.15 ml (0.70 mmol) 1-Dodecin **108** werden in einem 25 ml Einhalskolben in 10 ml Methanol gelöst. Nach der Zugabe von 55 mg (0.28 mmol) Natriumascorbat und 20 mg (0.14 mmol) Kupfersulfat lässt man das Reaktionsgemisch über Nacht rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (40 g Säule, EtOAc/MeOH 10:1). Man erhält 180 mg eines farblosen Feststoffes (0.26 mmol, 52 %).

R_F-Wert = 0.40 (EtOAc/MeOH 10:1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 0.78 (t, 3H, J = 6.6 Hz, CH_3), 1.16 (s, 14H, CH_2), 1.55 (s, 2H, CH_2), 2.58 (m, 2H, NCHCH_2), 3.72 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C5}')$), 4.20 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C4}')$), 4.48 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C3}')$), 5.25 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C2}')$), 5.66 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C5})$), 6.47 (d, 1H, J = 9 Hz, $\text{CH}(\text{C1}')$), 7.62 (s, 1H, NCH), 7.94(d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C6})$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ = 13.8 (CH_3), 22.4 – 31.7 (CH_2), 61.1 ($\text{CH}_2(\text{C5}')$), 65.6 ($\text{CH}(\text{C2}')$), 70.7 ($\text{CH}(\text{C3}')$), 86.1($\text{CH}(\text{C4}')$), 86.5($\text{CH}(\text{C1}')$), 102.8, (CH_5), 140.4(CH_6), 150.6 (C_2), 163.8 (C_4)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_5$ gef.: 436.2554

ber.: 436.2549

*N*2'-(4-(1-Pyrenyl-(butansäuremethyamidyl))-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)uridin **108h**

60 mg ml (0.14 mmol) Pyrenbuttersäurepropargylamid **110** werden zu 2.80 ml einer 0.05 M Lösung (0.14 mmol) von 2'-Azido-2'-Deoxyuridin **100** in Acetonitril gegeben und mit 0.28 ml Wasser versetzt. 11 mg (0.06 mmol) CuI werden hinzugegeben. Die Lösung wird für 72 h bei 35 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (40 g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) gereinigt. Man erhält 10 mg eines gelblichen Feststoffes (0.02 mmol, 17 %).

R_F -Wert = 0.23 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ = 2.29 (m, 2H, CH_2), 2.51 (m, 2H, NCHCH_2), 3.33 (m, 2H, CH_2); 3.68 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C5}')$), 4.09 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C4}')$), 4.13 (m, 2H, CH_2); 4.35 (d, 2H, J = 5.4 Hz, CH_2); 4.41 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C3}')$), 5.33 (m, 1H, 5'-OH); 5.39 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C2}')$), 5.70 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C5})$), 5.90 (d, 1H, J = 5.4 Hz, 3'-OH); 6.46 (d, 1H, J = 9 Hz, $\text{CH}(\text{C1}')$), 7.96 (s, 1H, NCH), 8.02(d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C6})$), 7.93 - 8.29 (m, 9H, CH_{arom}); 11.4 (s, 1H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ = 27.4 (CH_2), 30.2 (CH_2), 32.2 (CH_2), 34.7 (CH_2), 48.5 (CH), 60.3 ($\text{CH}_2(\text{C5}')$), 69.1 ($\text{CH}(\text{C2}')$), 70.7 ($\text{CH}(\text{C3}')$), 85.6($\text{CH}(\text{C4}')$), 85.7($\text{CH}(\text{C1}')$), 102.5, (CH_5), 106.3 (C), 119.5 (C), 123.5 (CH), 124.7 (CH), 124.9 (CH), 126.1 (CH), 126.4 (CH), 127.2 (CH), 127.4 (CH), 127.5 (CH), 128.1 (CH), 129.2 (C), 130.4 (C), 130.8 (C), 136.5 (C), 140.0 (CH_6), 144.6 (C), 150.3 (C_2), 162.9 (C_4), 171.8 (C)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_6$ gef.: 595.2321

ber.: 595.2249

Arabino-*O*2,*O*2'-anhydro-*O*5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **111** (OK-117)

1.00 g (4.50 mmol) Arabino-*O*2,*O*2'-anhydrouridin **41** werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenk Kolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 1.75 g (5.00 mmol) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid und 500 mg DMAP rührt die orange Suspension über Nacht bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (300 g Säule, EtOAc/MeOH 2% -> 20%) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 2.17 g eines farblosen Feststoffes (4.10 mmol, 90%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.02 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.89 (s, 6H, OCH₃), 4.12 (m, 1H, CH (C4')), 4.47 (m, 1H, CH(C3')), 4.94 (s, 1H, CH(C2')), 6.04 (d, 1H, J = 7.5 Hz, CH(C5)), 6.11 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 6.96 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.44 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.59 (d, 1H, J = 7.5 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 55.2 (OCH₃), 60.3 (CH₂(C5')), 86.1 (CH(C4')), 88.4 (CH(C2')), 89.1 (CH(C3')), 90.1 (CH(C1')), 109.8 (C5), 113.1 (CH_{arom}), 127.8 (CH_{arom}), 129.7 (CH_{arom}), 129.8 (CH_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 135.4 (C6), 144.3 (C_{arom}), 158.4 (C2), 172.2 (C4)

N2',O3'-(2-(Trichloromethyl)oxazolino)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin (OK-126)

1.10 g (2.10 mmol) Arabino-O2,O2'-anhydro-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **111** werden in 5.00 ml (49.9 mmol) CCl₃CN in einem 100 ml Einhalskolben gelöst. Nach der vorsichtigen Zugabe von 400 mg (1.05 mmol) NaH wird die Suspension für 18 h bei 90°C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) 960 mg eines gelben Feststoffes (1.42 mmol, 68%).

R_F-Wert = 0.86 (CH₂Cl₂/MeOH 10:1)

N2'-Amino-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **112** (OK-127)

300 mg (0.45 mmol) N2',O3'-(2-(Trichloromethyl)oxazolino)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)-uridin werden in 5.00 ml 80%iger Essigsäure für 18 h bei Raumtemperatur in einem 10 ml Einhalskolben gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel mit Hilfe von 10 ml MeOH am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (30g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 5:1) 50 mg eines farblosen Feststoffes (0.20 mmol, 46%).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.32 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.55 (m, 1H, CH (C2')), 3.60 (s, 6H, CH₃-O), 4.15 (s, 1H, CH(C3')), 4.21 (s, 1H, CH(C4')), 5.26 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.87 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 6.73 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.12 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.66 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 55.2 (OCH₃), 63.4 (CH₂(C5')), 71.6 (CH(C3')), 85.3 (CH(C1')), 86.9 (CH(C4')), 89.1 (CH(C2')), 102.5 (C5), 113.2 (CH_{arom}), 127.9 (CH_{arom}), 128.1 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 140.1 (C6), 144.1 (C_{arom}), 151.4 (C2), 158.6 (C_{arom}), 163.2 (C4)

N2'-Amino-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **112** (OK-129)

300 mg (0.45 mmol) N2',O3'-(2-(Trichloromethyl)oxazolino)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)-uridin werden in 5 ml Ethanol in einem 10 ml Einhalskolben gelöst. Nach der Zugabe von 0.56 ml einer 6N NaOH-Lösung wird die Reaktionsmischung für 16 h unter Rückfluss gerührt. Anschließend werden zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittel am Rotationsverdampfer erhält man nach der

säulenchromatographischen Reinigung (30 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 150 mg eines farblosen Feststoffes (0.26 mmol, 57%).

R_F-Wert = 0.55 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.32 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.55 (m, 1H, CH(C2')), 3.60 (s, 6H, OCH₃), 4.15 (s, 1H, CH(C3')), 4.21 (s, 1H, CH(C4')), 5.26 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.87 (d, 1H, J = 6 Hz, CH(C1')), 6.73 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.12 (m, 9H, (CH_{arom})) 7.66 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 55.2 (OCH₃), 63.4 (CH₂(C5')), 71.6 (CH(C3')), 85.3 (CH(C1')), 86.9 (CH(C4')), 89.1 (CH(C2')), 102.5 (C5), 113.2 (CH_{arom}), 127.9 (CH_{arom}), 128.1 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 135.3 (C_{arom}), 140.1 (C6), 144.1 (C_{arom}), 151.4 (C2), 158.6 (C_{arom}), 163.2 (C4)

HRMS (ESI) *m/z* (M+Na⁺) C₃₀H₃₁N₃NaO₇ gef.: 568.2038

ber.: 568.2060

N2'-Amino-O4'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **113**

660 mg (1.20 mmol) N2'-Amino-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **112** werden in 10 ml trockenem CH₂Cl₂ gelöst. 370 mg (2.40 mmol) TBDMSCl und 1.47 g (10.00 mmol) DBU werden hinzugefügt und die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene weißgelbe Niederschlag wird abfiltriert, das Filtrat zwischen 100 ml Dichlormethan und 50 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man 710 mg eines farblosen Feststoffes. (1.00 mmol, quant.).

N2'-Palmitylamido-O4'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **115**

100 mg (0.15 mmol) N2'-Amino-2'-desoxy-O4'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **113** werden in 5 ml trockenem DMF in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Unter Rühren werden 40 mg (0.20 mmol) DCC, 40 mg (0.16 mmol) Palmitinsäure und anschließend 40 mg (0.35 mmol) HOBt hinzugefügt. Nachdem die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur rührt, wird der entstandene weißgelbe Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zwischen 50 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Es wurden nur die Edukte zurück erhalten.

N2'-Palmitylamido-O4'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **115**

230 mg (0.35 mmol) N2'-Amino-2'-desoxy-O4'-(tertbutyldimethylsilyl)-O5'-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **113** werden in 10 ml trockenem Dichlormethan in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Unter Rühren werden 80 mg (0.32 mmol) Palmitinsäure, 130 mg (0.65 mmol) EDC und 10 mg DMAP hinzugefügt. Nachdem die Reaktionsmischung für 16 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre rührt, wird der entstandene weißgelbe Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zwischen 50 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Es wurden nur die Edukte zurück erhalten.

N2'-Oleoylamido-*O4'*-(tertbutyldimethylsilyl)-*O5'*-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **114**

110 mg (0.17 mmol) *N2'*-Amino-2'-desoxy-*O4'*-(tertbutyldimethylsilyl)-*O5'*-(4,4-dimethoxytrityl)uridin **113** werden in 2 ml trockenem Dichlormethan in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben gelöst. Nachdem die Lösung mittels eines Eisbades auf 0°C abgekühlt ist, wird unter Rühren 0.06 ml (0.40 mmol) Triethylamin hinzu gegeben und nach weiteren 30 min 500 mg (0.17 mmol) Ölsäurechlorid. Das Reaktionsgemisch wird anschließend 4 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt, der entstandene Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zwischen 50 ml Dichlormethan und 20 ml einer gesätt. NH₄Cl-Lösung extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Feststoffes und dem Abrotieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (30g Säule, CycH/EtOAc 4:1) 60 mg eines farblosen Feststoffes (0.07 mmol, 41 %).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.01 (6H, s, SiCH₃), 0.90 (s, 9H, CH₃), 0.92 (t, 3H, J = 6.1 Hz, CH₃), 1.26 (s, 20H, CH₂), 1.62 (m, 2H, CO-CH₂-CH₂-CH₂), 2.01 (d, 4H, J = 5.6Hz, CH₂CH₂-CH=CH), 2.12 (m, 2H, CO-CH₂-CH₂), 3.35 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.83 (m, 6H, OCH₃), 4.62 (m, 1H, CH(C4')), 4.71 (m, 2H, CH(C3')+(C2')) 5.39 (m, 2H, CH₂-CH=CH), 5.55 (d, 1H, J = 8Hz, CH(CH5)), 6.81 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.17 (m, 3H, (CH_{arom})), 7.35 (m, 4H, (CH_{arom})), 7.49 (m, 2H, (CH_{arom}))

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = -4.6 (Si-CH₃), 14.1 (CH₃), 18.0 (SiC), 22.7 (CH₂-CH₂-CH₃), 25.4 (Si-CH₃), 25.7 (CH₂), 27.2 (CH₂-CH₂-CH), 29.1-29.8 (CH₂), 32.0 (CH₂-CH₂-CH₃), 36.5 (CO-CH₂-CH₂), 55.3 (OCH₃), 63.2 (CH₂(C5')), 76.6 (CH(C3')), 86.0 (CH(C2')), 86.8 (CH(C4')-O), 90.5 (CH(C1')), 102.9 (C5), 113.3 (CH_{arom}), 127.1 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 129.1 (CH_{arom}), 135.0 (C_{arom}), 139.5 (C6), 144.0 (C_{arom}), 150.8 (C2), 158.7 (C_{arom}), 162.9 (C4), 173.2 (NHC(O))m

N2'-(Nonylamino)-*O5'*-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **116**

500 mg (0.92 mmol) *N2'*-Amino-*O5'*-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **112** werden mit 140 mg (1.00 mmol) Nonanal 15 min bei 0°C in einem 50 ml Einhalskolben in 15 ml Methanol gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 20 mg (0.32 mmol) NaCNBH₃ in 5 ml Methanol innerhalb von 30 Minuten dazugetropft. Danach wird die Mischung erst 2 Stunden bei 0°C und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, wobei die Suspension in eine klare Lösung überging. Nach dem Einengen der Mischung im Vakuum wird je 2-mal mit je 10 ml Wasser und 2-mal mit je 10 ml Brine gewaschen bevor die wässrige Phase dreimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert wird. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CHCl₃/MeOH 30:1) 60 mg eines farblosen Feststoffes (0.83 mmol, 90 %).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 1 H, J = 6 Hz, CH₃), 1.28 (s, 12 H, CH₂), 1.42 (s, 4H, CH₂), 2.12 (m, 2H, CH₂), 3.81 (s, 6H, OCH₃, CH_{arom}); 4.00 (m, 4H, CH₂(C5')+CH(C4')+CH(C2')), 4.71 (m, 1H, CH(C3')), 5.82 (s, 1H, CH(C1')), 5.95 (d, 1H, J = 8Hz, CH5), 6.86 (4 H, d, J = 9 Hz, CH_{arom}), 7.36 (m, 4 H, CH_{arom}), 7.79 (m, 4H, CH_{arom})

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.6 (CH₂), 26.0 (CH₂), 29.2-29.9 (CH₂), 31.8 (CH₂), 55.2 (OCH₃), 87.0 (CH(C1')), 102.2 (CH(C5)), 113.2 (CH_{arom}), 127,0/128,0/129,9 (CH_{arom}), 134.9 (C_{arom}); 144.2 (C(C2)), 158.6 (C(C4)), 163.2 (CH(C6))

2,3-Bis(octadecyloxy)propanal **118**

2.98 g (5.00 mmol) 2,3-Bis(octadecyloxy)propan-1-ol **117** werden in einem 250 ml Einhalskolben in 35 ml CH₂Cl₂ bei 0°C zu einer Lösung von 2.35 g (5.55 mmol) Dess-Martin-Periodinan in 100 ml Dichlormethan getropft und 30 min bei 0°C gerührt. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch 4-mal mit je 30 ml einer gesättigt. KHCO₃-Lösung, 4-mal mit je 30 ml einer 1.60 M Na₂S₂O₃-Lösung und 3-mal mit je 30 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120g Säule, CycH/EtOAc 50:1) 2.30 g eines farblosen Wachses (4.80 mmol, Quant.).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.87 (t, 6 H, J = 61 Hz, CH₃), 1.24 (s, 60 H, CH₂), 3.61 (m, 7 H, OCH₂), 9.71 (s, 1 H, CHO)

N2'-(2, 3-Bis(octadecyloxy)propanylamino)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **119**

500 mg (0.92 mmol) N2'-Amino-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **112** werden mit 590 mg (1.00 mmol) 2,3-Bis(octadecyloxy)propanal **118** 15 min bei 0°C in einem 50 ml Einhalskolben in 15 ml Methanol und 10 ml Cyclohexan gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 20 mg (0.32 mmol) NaCNBH₃ in 5 ml Methanol innerhalb von 30 Minuten dazugetropft. Danach wird die Mischung erst 2 Stunden bei 0°C und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, wobei die Suspension in eine klare Lösung überging. Nach dem Einengen der Mischung im Vakuum wird je zweimal mit je 10 ml Wasser und zweimal mit je 10 ml Brine gewaschen, bevor die wässrige Phase dreimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert wird. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CHCl₃ -> CHCl₃/MeOH 30:1) 120 mg eines farblosen Feststoffes (0.11 mmol, 12 %).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.86 (t, 1 H, J = 6 Hz, CH₃), 1.28 (s, 60 H, CH₂), 1.53 (s, 4H, CH₂), 3.8 (s, 6H, OCH₃, DMTr); 4.00 (m, 4H, CH₂(C5')+CH(C4')+CH(C2')), 5.21 (s, 1H, CH(C1')), 6.08 (d, 1H, J = 8Hz, CH5), 6.86 (4 H, d, J = 9 Hz, CH_{arom}), 7.36 (m, 4 H, CH_{arom}), 7.79 (m, 4H, CH_{arom})

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₃), 22.6 (CH₂), 26.0 (CH₂), 29.2-29.9 (CH₂), 31.8 (CH₂), 55.1 (OCH₃), 87.0 (CH(C1')), 102.2 (CH(C5)), 113.2 (DMTr), 127,0/128,0/129,9 (CH_{arom}), 134.9 (C_{arom}); 144.2 (C(C2)), 158.6 (C(C4)), 163.2 (CH(C6))

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₆₉H₁₁₀N₃O₉ gef.: 1124.8208

ber.: 1124.8242

2'-Iod-2'-desoxyuridin (OK-125)

450 mg (2.00 mmol) Arabino-*O*2,*O*2'-anhydrouridin **41**, 450 mg (3.00 mmol) NaI und 570 mg (3.00 mmol) TsOH•H₂O werden in 20 ml MeOH in einem 50 ml Einhalskolben gelöst und für 3 h bei 50°C gerührt. Nachdem die Suspension abgekühlt ist, wird der Niederschlag abfiltriert und dem Filtrat 2.00 ml einer gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung beigesetzt. Die gelbe Reaktionsmischung wird 15 min in einen Ultraschallbad entfärbt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CHCl₃/MeOH 3:1) 700 mg eines gelben Schaums. Da dieser noch Iod enthält, wird der Feststoff nochmals in EtOH gelöst, mit 2 ml einer gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung versetzt, für 1 h in ein Ultraschallbad gegangen, der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 520 mg eines farblosen Feststoffes (1.47 mmol, 73%).

R_F-Wert = 0.63 (CHCl₃/MeOH 3:1)

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ = 3.58 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.84 (m, 1H, CH(C4')), 3.94 (m, 1H, CH(C3')), 4.48 (m, 1H, CH(C2')), 5.70 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C1')), 6.20 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 7.87 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 11.4 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ = 32.2 (CH(C2')), 60.7 (CH₂(C5')), 70.1 (CH(C3')), 85.6 (CH(C1')), 89.0 (CH(C4')), 102.2 (C5), 139.7 (C6), 150.7 (C2), 162.9 (C4)

2'-Iod-*O*3',*O*5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)uridin **120** (OK-325)

1.00 g (2.35 mmol) *O*2,*O*2'-Anhydro-(*O*3',*O*5'-(tetraisopropyldisilyl)-β-*D*-arabinofuranos-1-yl)uracil **47**, 530 mg (3.35 mmol) NaI und 670 mg (3.53 mmol) TsOH•H₂O werden in 25 ml Aceton in einem 50 ml Einhalskolben gelöst und für 3 h bei 50°C gerührt. Nachdem die Suspension abgekühlt ist, wird der Niederschlag abfiltriert und dem Filtrat 2 ml einer gesättigten Na₂S₂O₃-Lösung beigesetzt. Die gelbe Reaktionsmischung wird 15 min in einen Ultraschallbad entfärbt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt. Man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (120 g Säule, CycH/EtOAc 4:1) 590 mg eines farblosen Feststoffes (1.00 mmol, 43%).

R_F-Wert= 0.32 (CycH/EtOAc 4:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.01 (s, 32H, CH+CH₃), 3.85 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.98 (m, 1H, CH(C4')), 4.14 (m, 1H, CH(C3')), 4.62 (m, 1H, CH(C2')), 5.70 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 6.20 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 8.05 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6)), 9.52 (s, 1H, NH)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 13.0-13.4 (SiCH), 17.1-17.4 (CH₃), 34.8 (CH(C2')), 59.4 (CH₂(C5')), 67.91 (CH(C3')), 85.6 (CH(C1')), 94.1 (CH(C4')), 101.6 (C5), 141.2 (C6), 150.2 (C2), 163.8 (C4)

2'-(3-Methoxy)phenyl-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)uridin **121** (OK-329)

120 mg (0.20 mmol) 2'-Iod-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)uridin **120** werden in einem ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben in 5 ml trockenem THF unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 36 µL (0.25 mmol) TMEDA wird das Reaktionsgemisch mittels Trockeneis/Isopropanol auf -78°C abgekühlt. Anschließend tropft man 2.00 ml (0.50 mmol) einer 0.25 M Lösung von 3-MeOC₆H₄MgBr in THF hinzu und 2

mg (0.01 mmol) FeCl₃. Die nun orangefärbende Suspension lässt man auf 0°C erwärmen und anschließend eine weitere Stunde bei 0°C rühren. Man beendet die Reaktion durch Zugabe von einer 25% NH₄OH-Lösung, entfernt das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und extrahiert den Rückstand zwischen EtOAc und Wasser. Es konnte kein Produkt nachgewiesen werden.

2'-Allyl-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **122** (OK-330)

120 mg (0.20 mmol) 2'-Iod-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **120** werden in einem ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben in 5 ml trockenem THF unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 36 µL (0.25 mmol) TMEDA wird das Reaktionsgemisch mittels Trockeneis/Isopropanol auf -78°C abgekühlt. Anschließend tropft man 0.50 mL (0.50 mmol) einer 1.00 M Lösung von Allylmagnesiumbromid in THF hinzu und 2 mg (0.01 mmol) NiCl₂. Die nun orangefärbende Suspension lässt man auf 0°C erwärmen und anschließend eine weitere Stunde bei 0°C rühren. Man beendet die Reaktion durch Zugabe von einer 25% NH₄OH-Lösung, entfernt das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und extrahiert den Rückstand zwischen EtOAc und Wasser. Es konnte kein Produkt nachgewiesen werden.

2'-Allyl-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **119** (OK-331)

120 mg (0.20 mmol) 2'-Iod-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **120** werden in einem ausgeheizten 10 ml Schlenkkolben in 5 ml trockenem Dichlormethan unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 7 mg (0.04 mmol) PdCl₂ und 23 mg (0.04 mmol) (dppf)₂ wird das Reaktionsgemisch auf 0°C abgekühlt. Anschließend tropft man langsam 0.50 ml (0.50 mmol) einer 1.00 M Lösung von Allylmagnesiumbromid in THF hinzu. Die nun gelbe Lösung lässt man auf Raumtemperatur erwärmen und anschließend über Nacht rühren. Man beendet die Reaktion durch Zugabe von 5 ml MeOH, entfernt das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und extrahiert den Rückstand zwischen Dichlormethan und Wasser. Es konnte kein Produkt nachgewiesen werden.

2'-Phenyl-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **121** (OK- 322)

In einem 50 ml Einhalskolben werden 660 mg (1.00 mmol) 2'-Iod-2'-desoxy-*O*3',*O*5'-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)uridin **120**, 250 mg (2.00 mmol) Phenylborsäure, 130 mg (0.50 mmol) PPH₃, 25 mg (0.10 mmol) PdOAc, 420 mg (3.00 mmol) K₂CO₃ und 650 mg (2.00 mmol) TBAB in 20 ml eines Gemisches aus DMF : Wasser (4:1) gelöst und für 20 h bei 90°C gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand zwischen Dichlormethan und Brine extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und eingeeengt. Man kann lediglich mittels HPLC/MS das β-Eliminierungsprodukt des Uridins nachweisen.

5-(Tocopheroxyprop-1-ynyl)-2'-desoxyuridin **128** (OK-355)

1.42 g (4.00 mmol) 5-Iod-2'-desoxyuridin **124** werden in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 20 ml trockenem DMF gelöst. Anschließend gibt man der Lösung 240 mg (0.20 mmol) Pd(PPh₃)₄, 75 mg (0.40 mmol) CuI, 1.20 ml (8.00 mmol) Triethylamin und 7.49 g (16.0 mmol) Tocopherolpropargylether **126** hinzu und lässt die gelbe Lösung über Nacht unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel des nun weinroten Reaktionsgemisches wird am Rotationsverdampfer mit Hilfe von Toluol weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 1.47 g eines gelben Feststoffes (2.10 mmol, 53%).

R_F-Wert = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 0.93 (m, 12H, CH₃), 1.10 – 1.76 (m, 27H, CH/CH₂), 2.05 (s, 3H, CH₃), 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.18 (s, 3H, CH₃), 2.33 (m, 2H, CH₂), 2.37 (m, 1H, CH), 2.53 (m, 2H, CH₂ (C2')), 3.81 (m, 2H, CH₂ (C5')), 4.03 (m, 1H, CH (C4')), 4.51 (s, 3H, CH (C3') + CCH₂-O), 6.18 (t, 1H, J = 9 Hz, CH (C1')), 8.00 (s, 1H, CH (C6)), 9.76 (s, 1H, NH)

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 11.7-12.8 (CH₃Aromat), 19.8 (CH₃), 20.1 (CH₂), 20.5 (CH₂), 22.6 (CH₃), 23.7 (CH₃), 24.4 (CH₂), 24.7 (CH₂), 27.9 (CH₃), 29.6 (CH), 31.1 (CH₂), 31.2 (CH₂), 31.4 (CH₂), 32.6 (CH), 32.7 (CH), 37.2 (CH₂ (C2')), 37.4 (CH₂), 61.3 (OCH₂), 61.9 (CH₂ (C5')), 71.1 (CH (C3')), 74.9 (C), 77.5 (C), 86.5 (CH (C4')), 87.4 (CH (C1')), 89.4 (C), 99.3 (C5), 117.6 (C), 122.9 (C_{arom}), 126.1 (C_{arom}), 127.9 (C_{arom}), 144.4 (CH₆), 147.6 (C_{arom}), 148.2 (C_{arom}), 149.6 (C2), 161.8 (C4)

Elementaranalyse für C₄₁H₆₂N₂O₇: gef. C: 69.84, H: 8.60, N: 3.68

ber. C: 70.86, H: 8.99, N: 4.03

HRMS (ESI) *m/z* (M+H⁺) C₄₁H₆₃N₂O₇: gef.: 695.4645

ber.: 695.4635

5-Cholesterylpropargyl-2'-desoxyuridin **127** (OK 388)

770 mg (1.70 mmol) 2-Propargylcholesterol **109** werden in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre in 20 ml trockenem DMF in einen 60°C warmen Ultraschallbad gelöst. Anschließend gibt man der Lösung 50 mg (0.04 mmol) Pd(PPh₃)₄, 15 mg (0.08 mmol) CuI, 0.26 mL (1.70 mmol) Triethylamin und 300 mg (0.85 mmol) 5-Iod-2'-desoxyuridin hinzu und lässt die orangebraune Lösung über Nacht unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer mit Hilfe von Toluol weitestgehend entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (240 g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 9:1) 340 mg eines gelben Feststoffes (0.52 mmol, 61 %).

R_F-Wert = 0.22 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)

¹H NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 0.63 (s, 3H, CH₃), 0.85 – 0.91 (m, 12H, CH₃), 1.01 – 1.43 (m, 16H, CH+CH₂), 1.90 (m, 6H, CH₂), 2.20 (m, 2H, CH₂ (C2')), 2.36 (m, 2H, CH₂), 3.31 (m, 1H, CHO), 3.71 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.98 (m, 1H, CH (C4')), 4.31 (s, 1H, CCH₂-O), 4.46 (s, 1H, CH (C3')), 5.31 (s, 1H, CH=), 6.14 (s, CH (C1')), 8.01 (s, 1H, CH (C6)), 9.98 (s, 1H, NH)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 11.7$ (CH_3), $18.6 - 46.1$ (CH , CH_2 , CH_3), 49.9 (CH), 55.9 (CH_2O), 56.6 (CH), 62.1 (CH_2 ($\text{C}5'$)), 70.7 (CH ($\text{C}3'$)), 76.8 (C), 78.6 (CHO), 86.5 (CH ($\text{C}4'$)), 87.3 (CH ($\text{C}1'$)), 89.6 (C), 99.1 ($\text{C}5$), 121.9 ($=\text{CH}$), 140.4 ($\text{C}=\text{C}$), 144.4 (CH_6), 149.5 ($\text{C}2$), 161.9 ($\text{C}4$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) $\text{C}_{39}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}$: gef.: 651.4366

ber.: 651.4368

$S2'$ -(Hexadecylmercapto)- $O5'$ -(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxyuridin **130a** (OK-282H)

150 mg (0.29 mmol) $S2'$ -(Hexadecylmercapto)-2'-desoxyuridin **70b** werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl nach 30min, wird das Reaktionsgemisch nach einer weiteren 1 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (30g Säule, CycH/EtOAc 3:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 200 mg eines farblosen Feststoffes (0.24 mmol, 90%).

R_F -Wert = 0.60 (CycH/EtOAc 1:1)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.84$ (t, 3H, $J = 6$ Hz, CH_3), 1.24 (s, 26H, CH_2), 1.55 (t, 2H, $J = 7$ Hz, CH_2), 2.63 (m, 2H, CH_2), 3.49 (m, 2H, CH_2 ($\text{C}5'$)), 3.54 (m, 1H, CH ($\text{C}2'$)), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 4.18 (m, 1H, CH ($\text{C}4'$)), 4.39 (m, 1H, CH ($\text{C}3'$)), 5.34 (d, 1H, $J = 8$ Hz, CH ($\text{C}5$)), 6.06 (d, 1H, $J = 9$ Hz, CH ($\text{C}1'$)), 6.86 (d, 4H, $J = 9$ Hz, CH_{arom}), 7.26 (m, 9H, CH_{arom}), 7.81 (d, 1H, $J = 8$ Hz, CH ($\text{C}6$))

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 14.1$ (CH_3), $22.6-32.6$ (CH_2), 55.2 (OCH_3), 55.9 (CH ($\text{C}2'$)), 63.3 (CH_2 ($\text{C}5'$)), 71.0 (CH ($\text{C}3'$)), 84.7 (CH ($\text{C}4'$)), 87.3 (CH ($\text{C}1'$)), 102.6 ($\text{C}5$), 113.3 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 134.8 (C_{arom}), 135.0 (C_{arom}), 139.8 ($\text{C}6$), 144.1 (C_{arom}), 150.2 ($\text{C}2$), 158.7 ($\text{O}-\text{C}_{\text{arom}}$), 162.7 ($\text{C}4$)

$S2'$ -(d_{33} -Hexadecylmercapto)- $O5'$ -(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxyuridin **130b** (OK-282D)

300 mg (0.58 mmol) $S2'$ -(Hexadecylmercapto)-2'-desoxyuridin **70c** werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 200 mg (0.60 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl nach 30min, wird das Reaktionsgemisch nach einer weiteren 1h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (60g Säule, CycH/EtOAc 3:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 410 mg eines farblosen Feststoffes (0.50 mmol, 90%).

R_F -Wert = 0.60 (CycH/EtOAc 1:1)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 3.49$ (m, 2H, CH_2 ($\text{C}5'$)), 3.54 (m, 1H, CH ($\text{C}2'$)), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 4.18 (m, 1H, CH ($\text{C}4'$)), 4.39 (m, 1H, CH ($\text{C}3'$)), 5.34 (d, 1H, $J = 8$ Hz, CH ($\text{C}5$)), 6.06 (d, 1H, $J = 9$ Hz, CH ($\text{C}1'$)), 6.86 (d, 4H, $J = 9$ Hz, CH_{arom}), 7.26 (m, 9H, CH_{arom}), 7.81 (d, 1H, $J = 8$ Hz, CH ($\text{C}6$))

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 55.2 (OCH_3), 55.9 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 63.3 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.0 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 84.7 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 87.3 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.6 ($\text{C}5$), 113.3 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 134.8 (C_{arom}), 135.0 (C_{arom}), 139.8 ($\text{C}6$), 144.1 (C_{arom}), 150.2 ($\text{C}2$), 158.7 (OC_{arom}), 162.7 ($\text{C}4$)

SS2'-(Octadecyldisulfanyl)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin 130c (OK-312)

230mg (0.42 mmol) *SS2'-(Octadecyldisulfanyl)-2'-desoxyuridin 90* werden in 10 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 170 mg (0.50 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 170 mg (0.50 mmol) DMTrCl nach 16 h, wird das Reaktionsgemisch nach weiteren 16 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (60g Säule, DCM/MeOH 9:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 390 mg eines farblosen Feststoffes (0.42 mmol, Quant).

^1H -NMR (CDCl_3): δ = 0.85 (t, 3H, J = 6 Hz, CH_3), 1.24 (s, 28H, CH_2), 1.55 (t, 2H, J = 6.2 Hz, CH_2), 2.60 (m, 2H, CH_2), 3.68 (m, 4H, $\text{CH}(\text{C}4') + \text{CH}(\text{C}2') + \text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 4.18 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.40 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C}5)$), 6.06 (d, 1H, J = 9 Hz, $\text{CH}(\text{C}1')$), 7.26 (m, 9H, CH_{arom}), 7.80 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{CH}(\text{C}6)$)

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ = 14.1 (CH_3), 22.6-31.6 (CH_2), 38.9 (SSCH_2), 55.2 (OCH_3), 58.6 ($\text{CH}(\text{C}2')$), 63.0 ($\text{CH}_2(\text{C}5')$), 71.2 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 85.5 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 89.1 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 102.6 ($\text{C}5$), 113.3 (CH_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 130.1 (CH_{arom}), 134.8 (C_{arom}), 135.0 (C_{arom}), 141.6 ($\text{C}6$), 144.1 (C_{arom}), 150.8 ($\text{C}2$), 158.7 (O-C_{arom}), 164.7 ($\text{C}4$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M} + \text{H}^+$) $\text{C}_{48}\text{H}_{67}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2$: gef.: 847.4407

ber.: 847.4390

5-(Tocopheroxyprop-1-ynyl)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin 130d (OK 359)

550 mg (0.79 mmol) *5-(Tocopheroxyprop-1-ynyl)-2'-desoxyuridin 128* werden in 5 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 270 mg (0.81 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl nach 30min, wird das Reaktionsgemisch nach weiteren 16 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (80g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 24:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 350 mg eines farblosen Feststoffes (0.35 mmol, 44 %).

R_F -Wert = 0.37 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1)

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm) = 0.86 (m, 12H, CH_3), 1.10 – 1.76 (m, 27H, CH/CH_2), 2.05 (s, 3H, CH_3), 2.14 (s, 3H, CH_3), 2.18 (s, 3H, CH_3), 2.33 (m, 2H, CH_2), 2.51 (m, 1H, CH), 2.53 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2')$), 3.37 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}5')$), 3.74 (s, 6H, OCH_3), 4.10 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}4')$), 4.28 (d, 2H, J = 1.2 Hz, CCH_2O), 4.51 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 6.27 (t, 1H, J = 9 Hz, $\text{CH}(\text{C}1')$), 6.83 (d, 4H, J = 8.7 Hz, CH_{arom}), 7.18 – 7.45 (m, 9H, CH_{arom}), 8.00 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}6)$)

^{13}C NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm}) = 11.7\text{--}12.9$ (CH_3Aromat), 19.8 (CH_3), 20.1 (CH_2), 20.5 (CH_2), 22.6 (CH_3), 23.7 (CH_3), 24.4 (CH_2), 24.7 (CH_2), 27.9 (CH_3), 29.6 (CH), 31.1 (CH_2), 31.2 (CH_2), 31.4 (CH_2), 32.6 (CH), 32.7 (CH), 37.2 (CH_2 ($\text{C}2'$)), 37.4 (CH_2), 55.2 (OCH_3), 60.9 ($\text{CH}_2\text{--O}$), 63.5 (CH_2 ($\text{C}5'$)), 72.3 (CH ($\text{C}3'$)), 74.9 (C), 77.5 (C), 85.8 (CH ($\text{C}4'$)), 86.3 (CH ($\text{C}1'$)), 87.0 (C), 89.9 (C), 99.7 ($\text{C}5$), 113.3 (C), 117.6 (C), 122.9 (C_{arom}), 126.1 (C_{arom}), 126.9 (C_{arom}), 127.9 (C_{arom}), 128.0 (CH_{arom}), 128.5 (CH_{arom}), 128.6 (CH_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 142.9 (CH_6), 144.2 (CH_{arom}), 147.8 (C_{arom}), 148.1 (C_{arom}), 149.2 ($\text{C}2$), 158.6 (COMe), 161.2 ($\text{C}4$)

HRMS (ESI) m/z ($\text{M}+\text{Na}^+$) $\text{C}_{62}\text{H}_{80}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}$: gef.: 1019.5533

ber.: 1019.5756

5-(Cholesterylpropargyl)-2'-desoxy- $\text{O}5'$ -(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130e** (OK 390)

340 mg (0.52 mmol) 5-Cholesterylpropargyl-2'-desoxyuridin **129** werden in 5 ml trockenem Pyridin in einem 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 270 mg (0.81 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl nach 30min, wird das Reaktionsgemisch nach weiteren 16 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (80g Säule, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 24:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 280 mg eines farblosen Feststoffes (0.28 mmol, 54 %) und 150 mg Edukt (0.23 mmol, 44%).

R_F -Wert = 0.27 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1)

^1H NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 0.63$ (s, 3H, CH_3), 0.85 – 0.91 (m, 12H, CH_3), 1.01 – 1.43 (m, 16H, $\text{CH}+\text{CH}_2$), 1.90 (m, 6H, CH_2), 2.30 (m, 2H, CH_2 ($\text{C}2'$)), 2.36 (m, 2H, CH_2), 3.33 (m, 1H, $\text{CHO} + (\text{C}5')$), 3.79 (s, 6H, OCH_3), 4.11 (m, 2H, $\text{CH}(\text{C}4' + \text{CCH}_2\text{O})$), 4.55 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}3')$), 5.30 (s, 1H, $\text{CH}=\text{}$), 6.29 (s, $\text{CH}(\text{C}1')$), 6.82 (m, 4H, CH_{arom}), 7.30 (m, 10H, CH_{arom}), 8.01 (s, 1H, $\text{CH}(\text{C}6)$)

^{13}C NMR (CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 11.7$ (CH_3), 18.6 – 46.1 (CH , CH_2 , CH_3), 50.0 (CH), 55.6 (OCH_3), 56.1 (CH_2O), 56.6 (CH), 63.6 (CH_2 ($\text{C}5'$)), 71.9 ($\text{CH}(\text{C}3')$), 77.4 (C), 78.2 (CHO), 86.5 ($\text{CH}(\text{C}4')$), 86.4 ($\text{CH}(\text{C}1')$), 91.0 (C), 98.9 ($\text{C}5$), 113.1 (CH_{arom}), 121.7 ($=\text{CH}$), 126.8 – 131.9 (CH_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 140.5 (C), 144.5 (CH_6), 149.5 ($\text{C}2$), 158.5 ($\text{C}4$)

$\text{SS}2'$ -((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)-2'-desoxy- $\text{O}5'$ -(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130f** (OK 410)

895 mg (1.38 mmol) $\text{SS}2'$ -((11-pyrenyl)undecandisulfidyl)-2'-desoxyuridin **92** werden in 20 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 510 mg (2.20 mmol) DMTrCl und einer weiteren Zugabe von weiteren 100 mg (0.30 mmol) DMTrCl nach 30min, wird das Reaktionsgemisch nach weiteren 48 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (120g Säule, CycH/EtOAc 3:1 mit 1% Et_3N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 590 mg eines gelben Feststoffes (0.63 mmol, 45 %).

R_F -Wert = 0.32 (CycH/EtOAc 3:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.28 (s, 14H, CH₂), 1.36 (m, 2H, CH₂), 1.48 (m, 2H, CH₂), 1.72 (m, 2H, SSCH₂-CH₂), 2.54 (t, 2H, J = 7.2 Hz, SSCH₂), 3.28 (m, 4H, PyrenCH₂ + CH₂(C5')), 3.51 (m, 1H, CH (C2')), 3.66 (s, 6H, OCH₃), 4.00 (m, 1H, CH(C4')), 4.43 (m, 1H, CH(C3')), 5.22 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 6.14 (d, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 6.70 (d, 4H, J = 8.7 Hz, CH_{arom}), 7.10 – 7.29 (m, 9H, CH_{arom}), 7.56 - 8.18 (m, 9H, CH(C6) + CH_{arom})

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 27.9 - 31.4 (CH₂), 33.0 (PyrenCH₂), 38.7 (SSCH₂), 54.7 (OCH₃), 60.6 (CH(C2')), 63.0 (CH₂(C5')), 72.0 (CH(C3')), 84.4 (CH(C1')), 86.9 (C), 87.2 (CH(C4')), 101.1 (C5), 112.8 (CH_{arom}), 123.4 – 131.4 (C/CH_{arom}), 134.5 (C_{arom}), 134.7 (C_{arom}), 136.9 (C_{arom}), 139.7 (CH6), 143.9 (C_{arom}), 150.0 (C2), 158.2 (C_{arom}), 162.4 (C4)

02'-((Diocetadecylamino)ethylcarbamoyl)-2'-desoxy-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin 130f (OK-382)

170 mg (0.20 mmol) 02'-((Diocetadecylamino)ethylcarbamoyl)-2'-desoxyuridin **65** werden in 5 ml trockenem Pyridin in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben unter Argonatmosphäre gelöst. Nach der Zugabe von 150 mg (0.30 mmol) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid und einer weiteren Zugabe von weiteren 150 mg (0.30 mmol) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid nach 30 min, wird das Reaktionsgemisch nach weiteren 16 h mit 0.5 ml MeOH gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer weitestgehend entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (80g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 19:1 mit 1% Et₃N) gereinigt. Man erhält nach dem Abrotieren der relevanten Fraktionen 110 mg eines farblosen Feststoffes (0.09 mmol, 45 %).

R_F-Wert = 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH 19:1)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.87 (t, 6H, J = 6.3 Hz, CH₃), 1.22 (s, 40H, CH₂), 1.72 (m, 2H, CH₂), 2.55 (m, 6H, CH₂N), 3.44 (m, 2H, CH₂ (C5')), 3.52 (m, 2H, CH₂NH), 3.76 (s, 6H, OCH₃), 4.13 (m, 1H, CH (C4')), 4.56 (m, 1H, CH (C3')), 5.25 (d, 1H, J = 5.1 Hz, CH (C2')), 5.31 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C5)), 5.87 (d, 1H, J = 4.5 Hz, CH(C1')), 6.82 (m, 4H, CH_{arom}), 7.14 – 7.29 (m, 10H, CH_{arom}), 7.81 (d, 1H, J = 8 Hz, CH(C6))

¹³C NMR (CDCl₃) δ(ppm) = 14.0 (CH₃), 22.6 – 29.7 (CH₂), 31.9 (CH₂), 39.5 (NHCH₂), 52.9 (CH₂N), 53.1 (CH₂N), 55.1 (OCH₃), 62.4 (CH₂(C5')), 69.9 (CH(C3')), 76.3 (CH(C2')), 83.5 (CH(C4')), 86.7 (CH(C1')), 86.9 (C), 102.5 (CH(C5)), 126.8 – 130.0 (CH_{arom}), 140.1 (CH(C6)), 147.3 (C_{arom}), 150.4 (C(C2)), 155.4 (C(C(O)NH)), 158.5(C_{arom}), 163.3(C(C4))

S2'-(Hexadecylmercapto)-2'-desoxy-03'-(2-cyanoethyl-diisopropylphosphoramidit)-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin 131a (OK-301H)

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben werden unter Argonatmosphäre 710 mg (0.90 mmol) S2'-(Hexadecylmercapto)-2'-desoxy-05'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130a** in 20 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nachdem man der Lösung 330 µl (1.00 mmol) CyTIPP und 2.30 ml einer 0.45 M Tetrazollösung (in Acetonitril) hinzugefügt hat, lässt man das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur rühren und verfolgt den Reaktionsfortschritt mittels DC. Nach dem Einengen der Mischung am Rotationsverdampfer erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N 18:2:1) 620 mg eines farblosen Feststoffes. (0.63 mmol, 70%)

S2'-(d₃₃-Hexadecylmercapto)-2'-desoxy-O3'-(2-cyanoethyl-diisopropylphosphoramidit)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **131b** (OK-301D)

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkkolben werden unter Argonatmosphäre 240 mg (0.30 mmol) S2'-(d₃₃-Hexadecylmercapto)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130b** in 15 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nachdem man der Lösung 100 µl (0.33 mmol) CyTIPP und 0.80 ml einer 0.45 M Tetrazollösung (in Acetonitril) hinzugefügt hat, lässt man das Reaktionsgemisch für 2 h bei Raumtemperatur rühren und verfolgt den Reaktionsfortschritt mittels DC. Nach dem Einengen der Mischung am Rotationsverdampfer erhält man nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N 20:2:1) 290 mg eines farblosen Feststoffes. (0.28 mmol, 95 %)

SS2'-(Octadecyldisulfanyl)-2'-deoxy-O3'-(2-cyanoethyl-diisopropylphosphoramidit)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **131c**

295 mg (0.30 mmol) SS2'-(Octadecyldisulfanyl)-2'-deoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130c** werden in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben über Nacht bei ca. $3 \cdot 10^{-4}$ mbar getrocknet und anschließend unter Argonatmosphäre in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach der Zugabe von 40 mg (0.33 mmol) 4,5-Dicyanoimidazol und 0.10 ml (0.33 mmol) CyTIPP rührt das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CH₂Cl₂/MeOH 30:1+ 1% Et₃N) 350 mg eines farblosen Feststoffes (0.29 mmol, Quant.).

R_F-Wert = 0.28 (CH₂Cl₂/MeOH 30:1)

5-(Tocopheroxyprop-1-ynyl)-2'-desoxy-O3'-(2-cyanoethyl-diisopropylphosphoramidit)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **131d** (OK-359)

265 mg (0.27 mmol) 5-(Tocopheroxyprop-1-ynyl)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130d** werden in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben über Nacht bei ca. $3 \cdot 10^{-4}$ mbar getrocknet und anschließend unter Argonatmosphäre in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach der Zugabe von 35 mg (0.29 mmol) 4,5-Dicyanoimidazol und 0.10 ml (0.29 mmol) CyTIPP rührt das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CycH/EtOAc 2:1 -> 1:1) 250 mg eines farblosen Feststoffes (0.21 mmol, 78%)

R_F-Wert = 0.71 (CH₂Cl₂/MeOH 30:1)

¹H NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 0.86 (m, 12H, CH₃), 1.10 – 1.64 (m, 27H, CH/CH₂), 1.85 (m, 9H, CH₃), 1.94 (s, 12H, CH₃), 2.13 (m, 2H, CH₂(C2')), 2.33 (m, 2H, CH₂), 2.51 (m, 1H, CH), 2.39 (m, 2H, CH₂CN), 3.27 (m, 2H, CH₂(C5')), 3.55 (m, 2H, CH₂OP), 3.62 (s, 6H, OCH₃), 4.08 (m, 1H, CH(C4')), 4.09 (d, 2H, J = 1.2 Hz, CCH₂O), 4.49 (m, 1H, CH(C3')), 6.10 (t, 1H, J = 9 Hz, CH(C1')), 6.72 (d, 4H, J = 8.7 Hz, CH_{arom}), 7.16 – 7.31 (m, 9H, CH_{arom}), 7.93 (s, 1H, CH(C6))

¹³C NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 11.5-12.6 (CH₃Aromat), 19.4 (CH₃), 20.0 (CH₂), 20.3 (CH₂CN), 20.9 (CH₂), 22.4 (CH₃), 23.2 (CH₃), 23.6 (CH₃), 24.5 (CH₂), 24.9 (CH₂), 27.9 (CH₃), 29.6 (CH), 31.4 (CH₂), 31.7 (CH₂), 31.9 (CH₂), 32.6 (CH), 32.7 (CH), 36.8 (CH₂ (C2')), 38.8 (CH₂), 42.8 (CH), 54.7 (OCH₃), 60.5 (CH₂-O), 63.5 (CH₂ (C5')), 72.3 (CH (C3')), 74.4 (C), 77.5 (C), 85.8 (CH (C4')), 86.3 (CH (C1')), 87.0 (C), 89.9 (C), 98.8 (C5), 112.8 (C), 116.3 (C), 122.9 (C_{arom}), 126.4 (C_{arom}), 126.5 (C_{arom}), 127.4 (C_{arom}), 127.5 (CH_{arom}), 128.5 (CH_{arom}), 129.65 (CH_{arom}), 134.9 (C_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 142.9 (CH₆), 144.2 (CH_{arom}), 147.8 (C_{arom}), 148.1 (C_{arom}), 148.6 (C2), 158.6 (COMe), 158.1 (C4)

³¹P NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 149.34

5-(Cholesteryloxyprop-1-ynyl)-2'-desoxy-O3'-(2-cyanoethyldiisopropylphosphoramidit)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **131e** (OK-413)

475 mg (0.50 mmol) 5-(Cholesteryloxyprop-1-ynyl)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130e** werden in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben über Nacht bei ca. $3 \cdot 10^{-4}$ mbar getrocknet und anschließend unter Argonatmosphäre in 15 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach der Zugabe von 80 mg (0.66 mmol) 4,5-Dicyanoimidazol und 0.20 ml (0.66 mmol) CyTIPP rührt das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CycH/EtOAc 2:1 -> 1:1) 180 mg eines farblosen Feststoffes (0.15 mmol, 31%).

R_F-Wert = 0.61 (CycH/EtOAc 2:1)

³¹P NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 150.14

SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)-2'-desoxy-O3'-(2-cyanoethyldiisopropylphosphor-amidit)-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **131f** (OK-412)

190 mg (0.20 mmol) SS2'-((11-Pyrenyl)undecandisulfidyl)-2'-desoxy-O5'-(4,4'-dimethoxytrityl)uridin **130f** werden in einem ausgeheizten 25 ml Schlenkkolben über Nacht bei ca. $3 \cdot 10^{-4}$ mbar getrocknet und anschließend unter Argonatmosphäre in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach der Zugabe von 40 mg (0.33 mmol) 4,5-Dicyanoimidazol und 0.10 mL (0.33 mmol) CyTIPP rührt das Reaktionsgemisch für 3 h bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und man erhält nach der säulenchromatographischen Reinigung (60g Säule, CycH/EtOAc 2:1 -> 1:1) 60 mg eines gelben Öles (0.05 mmol, 25%)

R_F-Wert = 0.81 (CycH/EtOAc 2:1)

³¹P NMR (CDCl₃): δ(ppm) = 149.14

Literaturverzeichnis

Aebischer, O. F.; Tondo, P.; Alameddine, B. und Jenny, T. A. (2006): Synthesis of novel fluorinated hexa-peri-hexabenzocoronenes, *Synthesis-Stuttgart* [17], Seite 2891-2896.

Agrofoglio, L. A.; Gillaizeau, I. und Saito, Y. (2003): Palladium-assisted routes to nucleosides, *Chemical Reviews* 103 [5], Seite 1875-1916.

Ahlers, M.; Ringsdorf, H.; Rosemeyer, H. und Seela, F. (1990): Orientation, Recognition, and Photoreaction of Nucleolipids in Model Membranes, *Colloid and Polymer Science* 268 [2], Seite 132-142.

Ahn, K. S.; Ou, W. und Silver, J. (2004): Inhibition of certain strains of HIV-1 by cell surface polyanions in the form of cholesterol-labeled oligonucleotides, *Virology* 330 [1], Seite 50-61.

Aime, C.; Manet, S.; Satoh, T.; Ihara, H.; Park, K. Y.; Godde, F. und Oda, R. (2007): Self-assembly of nucleophilic amphiphiles: Investigating nucleosides effect and the mechanism of micrometric helix formation, *Langmuir* 23 [26], Seite 12875-12885.

Alam, M. R.; Dixit, V.; Kang, H. M.; Li, Z. B.; Chen, X. Y.; Trejo, J.; Fisher, M. und Juliano, R. L. (2008): Intracellular delivery of an anionic antisense oligonucleotide via receptor-mediated endocytosis, *Nucleic Acids Research* 36 [8], Seite 2764-2776.

Alberti, P.; Bourdoncle, A.; Sacca, B.; Lacroix, L. und Mergny, J. L. (2006): DNA nanomachines and nanostructures involving quadruplexes, *Organic & Biomolecular Chemistry* 4 [18], Seite 3383-3391.

Albrecht, O.; Gruler, H. und Sackmann, E. (1978): Polymorphism of Phospholipid Monolayers, *Journal De Physique* 39 [3], Seite 301-313.

Alemdaroglu, F. E. und Herrmann, A. (2007): DNA meets synthetic polymers - highly versatile hybrid materials, *Organic & Biomolecular Chemistry* 5 [9], Seite 1311-1320.

Alessandrini, A. und Facci, P. (2005): AFM: a versatile tool in biophysics, *Measurement Science & Technology* 16 [6], Seite R65-R92.

Antoniow, S. und Witt, D. (2007): A novel and efficient synthesis of unsymmetrical disulfides, *Synthesis-Stuttgart* [3], Seite 363-366.

Ariga, K. und Kunitake, T. (1998): Molecular recognition at air-water and related interfaces: Complementary hydrogen bonding and multisite interaction, *Accounts of Chemical Research* 31 [6], Seite 371-378.

Asseline, U. und Thuong, N. T. (1990): New Solid-Phase for Automated Synthesis of Oligonucleotides Containing an Amino-Alkyl Linker at Their 3'-End, *Tetrahedron Letters* 31 [1], Seite 81-84.

Babu, S. A.; Yasuda, M. und Baba, A. (2007): In(III)-mediated chemoselective dehydrogenative interaction of ClMe₂SiH with carboxylic acids: Direct chemo- and regioselective Friedel-Crafts acylation of aromatic ethers, *Organic Letters* 9 [3], Seite 405-408.

- Baglioni, P. und Berti, D. (2003): Self assembly in micelles combining stacking and H-bonding, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 8 [1], Seite 55-61.
- Baglioni, P.; Berti, D.; Bonaccio, S. und Luisi, P. L. (1997): Molecular recognition in supramolecular structures formed by phosphatidynucleosides-based amphiphiles., *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 213, Seite 22-Coll.
- Banchelli, M.; Berti, D. und Baglioni, P. (2007): Molecular recognition drives oligonucleotide binding to nucleolipid self-assemblies, *Angewandte Chemie-International Edition* 46 [17], Seite 3070-3073.
- Banchelli, M.; Betti, F.; Berti, D.; Caminati, G.; Bombelli, F. B.; Brown, T.; Wilhelmsson, L. M.; Norden, B. und Baglioni, P. (2008): Phospholipid membranes decorated by cholesterol-based oligonucleotides as soft hybrid nanostructures, *Journal of Physical Chemistry B* 112 [35], Seite 10942-10952.
- Bannwarth, W. (1988): Solid-Phase Synthesis of Oligodeoxynucleotides Containing Phosphoramidate Internucleotide Linkages and Their Specific Chemical Cleavage, *Helvetica Chimica Acta* 71 [6], Seite 1517-1527.
- Bannwarth, W. und Trzeciak, A. (1987): A Simple and Effective Chemical Phosphorylation Procedure for Biomolecules, *Helvetica Chimica Acta* 70 [1], Seite 175-186.
- Bao, M. und Shimizu, M. (2003): N-trifluoroacetyl arenesulfenamides, effective precursors for synthesis of unsymmetrical disulfides and sulfenamides, *Tetrahedron* 59 [48], Seite 9655-9659.
- Barluenga, J.; Valdes, C.; Beltran, G.; Escribano, M. und Aznar, F. (2006): Developments in Pd catalysis: Synthesis of 1H-1,2,3-triazoles from sodium azide and alkenyl bromides, *Angewandte Chemie-International Edition* 45 [41], Seite 6893-6896.
- Barnes, L. M. und Dickson, A. J. (2006): Mammalian cell factories for efficient and stable protein expression, *Current Opinion in Biotechnology* 17 [4], Seite 381-386.
- Barral, K.; Moorhouse, A. D. und Moses, J. E. (2007): Efficient conversion of aromatic amines into azides: A one-pot synthesis of triazole linkages, *Organic Letters* 9 [9], Seite 1809-1811.
- Barthelemy, P.; Lee, S. J. und Grinstaff, M. (2005): Supramolecular assemblies with DNA, *Pure and Applied Chemistry* 77 [12], Seite 2133-2148.
- Barthelemy, P.; Prata, C. A. H.; Filocamo, S. F.; Immoos, C. E.; Maynor, B. W.; Hashmi, S. A. N.; Lee, S. J. und Grinstaff, M. W. (2005): Supramolecular assemblies of DNA with neutral nucleoside amphiphiles, *Chemical Communications* [10], Seite 1261-1263.
- Beissenhirtz, M. K. und Willner, I. (2006): DNA-based machines, *Organic & Biomolecular Chemistry* 4 [18], Seite 3392-3401.
- Bentley, P. H. und McCrae, W. (1970): Efficient Synthesis of Symmetrical 1,3-Diglycerides, *Journal of Organic Chemistry* 35 [6], Seite 2082-&.
- Berndt, P.; Kurihara, K. und Kunitake, T. (1995): Measurement of Forces between Surfaces Composed of 2-Dimensionally Organized, Complementary and Noncomplementary Nucleobases, *Langmuir* 11 [8], Seite 3083-3091.

Berti, D.; Franchi, L.; Baglioni, P. und Luisi, P. L. (1997): Molecular recognition in monolayers. Complementary base pairing in dioleoylphosphatidyl derivatives of adenosine, uridine, and cytidine, *Langmuir* 13 [13], Seite 3438-3444.

Berti, D.; Luisi, P. L. und Baglioni, P. (2000): Molecular recognition in supramolecular structures formed by phosphatidyl nucleosides-based amphiphiles, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 167 [1-2], Seite 95-103.

Berti, D.; Pini, F.; Baglioni, P. und Teixeira, J. (1999): Micellar aggregates from short-chain phospholiponucleosides: A SANS study, *Journal of Physical Chemistry B* 103 [10], Seite 1738-1745.

Berti, Debora (2006): Self assembly of biologically inspired amphiphiles, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 11, Seite 74-78.

Bestel, I.; Campins, N.; Marchenko, A.; Fichou, D.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2008): Two-dimensional self-assembly and complementary base-pairing between amphiphile nucleotides on graphite, *Journal of Colloid and Interface Science* 323 [2], Seite 435-440.

Beyer, M.; Fritscher, J.; Feresin, E. und Schiemann, O. (2003): Synthesis of novel aromatic nitroxides as potential DNA intercalators. An EPR spectroscopical and DFT computational study, *Journal of Organic Chemistry* 68 [6], Seite 2209-2215.

Bielinska, A.; Shivdasani, R. A.; Zhang, L. Q. und Nabel, G. J. (1990): Regulation of Gene-Expression with Double-Stranded Phosphorothioate Oligonucleotides, *Science* 250 [4983], Seite 997-1000.

Bijsterbosch, M. K.; Manoharan, M.; Dorland, R.; Van Veghel, R.; Biessen, E. A. L. und Van Berkel, T. J. C. (2002): bis-cholesteryl-conjugated phosphorothioate oligodeoxynucleotides are highly selectively taken up by the liver, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302 [2], Seite 619-626.

Bijsterbosch, M. K.; Rump, E. T.; De Vruhe, R. L. A.; Dorland, R.; van Veghel, R.; Tivel, K. L.; Biessen, E. A. L.; van Berkel, T. J. C. und Manoharan, M. (2000): Modulation of plasma protein binding and in vivo liver cell uptake of phosphorothioate oligodeoxynucleotides by cholesterol conjugation, *Nucleic Acids Research* 28 [14], Seite 2717-2725.

Binder, W. H.; Barragan, V. und Menger, F. M. (2003): Domains and rafts in lipid membranes, *Angewandte Chemie-International Edition* 42 [47], Seite 5802-5827.

Binnig, G.; Quate, C. F. und Gerber, C. (1986): Atomic Force Microscope, *Physical Review Letters* 56 [9], Seite 930-933.

Blodgett, K. B. (1935): Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface, *Journal of the American Chemical Society* 57 [1], Seite 1007-1022.

Bombelli, F. B.; Berti, D.; Keiderling, U. und Baglioni, P. (2002): Giant polymerlike micelles formed by nucleoside-functionalized lipids, *Journal of Physical Chemistry B* 106 [44], Seite 11613-11621.

Bonaccio, S.; Capitani, D.; Segre, A. L.; Walde, P. und Luisi, P. L. (1997): Liposomes from phosphatidyl nucleosides: An NMR investigation, *Langmuir* 13 [7], Seite 1952-1956.

- Boreskov, Y. G. und Berlin, Y. A. (1995): Synthesis of Fluorescent 3'-Carbamoyl Derivatives of Thymidine, *Biorganicheskaya Khimiya* 21 [10], Seite 795-801.
- Brown, D. M.; Parihar, D. B. und Todd, A. (1958): Deoxynucleosides and Related Compounds .8. Some Further Transformations of O2-2'-Cyclouridine, *Journal of the Chemical Society* [Dec], Seite 4242-4244.
- Brown, M. F.; Thurmond, R. L.; Dodd, S. W.; Otten, D. und Beyer, K. (2000): Membrane deformation on the mesoscopic length scale studied by 2(H) NMR spectroscopy., *Biophysical Journal* 78 [1], Seite 327A-327A.
- Brown, M. F.; Trouard, T. P. und Alam, T. M. (1994): Theory of Nuclear-Spin Relaxation in Phospholipid-Membranes, *Biophysical Journal* 66 [2], Seite A175-a175.
- Bugaut, A.; Toulme, J. J. und Rayner, B. (2004): Use of dynamic combinatorial chemistry for the identification of covalently appended residues that stabilize oligonucleotide complexes, *Angewandte Chemie-International Edition* 43 [24], Seite 3144-3147.
- Bunge, A. (2008): Charakterisierung membrangebundener Nukleinsäuren für nanobiotechnologische Anwendungen mittels Festkörper-NMR, Fakultät für Physik und Geowissenschaften, Martin - Luther - Universität, Leipzig.
- Bunge, A.; Kurz, A.; Windeck, A. K.; Korte, T.; Flasche, W.; Liebscher, J.; Herrmann, A. und Huster, D. (2007): Lipophilic oligonucleotides spontaneously insert into lipid membranes, bind complementary DNA strands, and sequester into lipid-disordered domains, *Langmuir* 23 [8], Seite 4455-4464.
- Campins, N.; Dieudonne, P.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2007): Nanostructured assemblies from nucleotide-based amphiphiles, *New Journal of Chemistry* 31 [11], Seite 1928-1934.
- Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Sharpless, K. B. und Fokin, V. V. (2004): Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis, *Organic Letters* 6 [17], Seite 2853-2855.
- Chan, Y. H. M.; Lenz, P. und Boxer, S. G. (2007): Kinetics of DNA-mediated docking reactions between vesicles tethered to supported lipid bilayers, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 [48], Seite 18913-18918.
- Chan, Y. H. M.; vanLengerich, Bettina; und Boxer, S. G. (2008): Lipid-anchored DNA mediates vesicle fusion as observed by lipid and content mixing, *Biointerphases* 3 [2], Seite FA17-FA21
- Charette, A. B. und Giroux, A. (1996): Palladium-catalyzed Suzuki-type cross-couplings of iodocyclopropanes with boronic acids: Synthesis of trans-1,2-dicyclopropyl alkenes, *Journal of Organic Chemistry* 61 [25], Seite 8718-8719.
- Chillemi, R.; Aleo, D.; Granata, G. und Sciuto, S. (2006): Synthesis of very short chain lysophosphatidyloligodeoxynucleotides, *Bioconj. Chem.* 17 [4], Seite 1022-1029.
- Christensen, S. M.; Rosenbohm, C.; Sorensen, M.; Larsen, L. E.; Wengel, J. und Koch, T. (2003): Improved synthesis of 2'-amino-LNA, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 22 [5-8], Seite 1131-1133.
- Chu, G.; Hayakawa, H. und Berg, P. (1987): Electroporation for the Efficient Transfection of Mammalian-Cells with DNA, *Nucleic Acids Research* 15 [3], Seite 1311-1326.

- Civitello, E. R.; Leniek, R. G.; Hossler, K. A.; Haebe, K. und Stearns, D. M. (2001): Synthesis of peptide-oligonucleotide conjugates for chromium coordination, *Bioconjugate Chemistry* 12 [4], Seite 459-463.
- Cleland, W. W. (1964): Dithiothreitol New Protective Reagent for Sh Groups, *Biochemistry* 3 [4], Seite 480-&.
- Copley, Shelley D.; Smith, Eric und Morowitz, Harold J. (2007): The origin of the RNA world: Co-evolution of genes and metabolism, *Bioorganic Chemistry* 35, Seite 430-443.
- Corey, D. R. (2007): RNA learns from antisense, *Nature Chemical Biology* 3 [1], Seite 8-11.
- Corradini, R.; Sforza, S.; Tedeschi, T. und Marchelli, R. (2007): Chirality as a tool in nucleic acid recognition: Principles and relevance in biotechnology and in medicinal chemistry, *Chirality* 19 [4], Seite 269-294.
- Corradini, R.; Sforza, S.; Tedeschi, T.; Totsingan, F. und Marchelli, R. (2007): Peptide nucleic acids with a structurally biased backbone: Effects of conformational constraints and stereochemistry, *Current Topics in Medicinal Chemistry* 7 [7], Seite 681-694.
- Cruciani, O.; Mannina, L.; Sobolev, A. P.; Segre, A. und Luisi, P. (2004): Multilamellar Liposomes formed by phosphatidyl nucleosides: An NMR-HR-MAS characterization, *Langmuir* 20 [4], Seite 1144-1151.
- Cuenoud, B.; Casset, F.; Husken, D.; Natt, F.; Wolf, R. M.; Altmann, K. H.; Martin, P. und Moser, H. E. (1998): Dual recognition of double-stranded DNA by 2'-aminoethoxy-modified oligonucleotides, *Angewandte Chemie-International Edition* 37 [9], Seite 1288-1291.
- Dantzman, C. L. und Kiessling, L. L. (1996): Reactivity of a 2'-thio nucleotide analog, *Journal of the American Chemical Society* 118 [47], Seite 11715-11719.
- Davis, B. G.; Khumtaveeporn, K.; Bott, R. R. und Jones, J. B. (1999): Altering the specificity of subtilisin *Bacillus lentus* through the introduction of positive charge at single amino acid sites, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 7 [11], Seite 2303-2311.
- Davis, J. T. (2004): G-quartets 40 years later: From 5'-GMP to molecular biology and supramolecular chemistry, *Angewandte Chemie-International Edition* 43 [6], Seite 668-698.
- Declercq, E.; Eckstein, F. und Merigan, T. C. (1969): Interferon Induction Increased through Chemical Modification of a Synthetic Polyribonucleotide, *Science* 165 [3898], Seite 1137-&.
- Demesmaeker, A.; Lebreton, J.; Hoffmann, P. und Freier, S. M. (1993): Stereocontrolled Synthesis of 2'-Alpha-C-Branched Nucleoside Analogs and Their Incorporation into Oligodeoxyribonucleotides, *Synlett* [9], Seite 677-679.
- Demesmaeker, A.; Lebreton, J.; Waldner, A.; Fritsch, V.; Wolf, R. M. und Freier, S. M. (1993): Amides as Substitute for the Phosphodiester Linkage in Antisense Oligonucleotides, *Synlett* [10], Seite 733-736.
- Divakar, K. J. und Reese, C. B. (1982): Reaction between 2,2'-Anhydro-1-Beta-D-Arabinofuranosyluracil and Thiolate Ions, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* [7], Seite 1625-1628.

- Dorn, K.; Klingbiel, R. T.; Specht, D. P.; Tyminski, P. N.; Ringsdorf, H. und Obrien, D. F. (1984): Permeability Characteristics of Polymeric Bilayer-Membranes from Methacryloyl and Butadiene Lipids, *Journal of the American Chemical Society* 106 [6], Seite 1627-1633.
- Dubey, I.; Pratviel, G. und Meunier, B. (2000): Synthesis and DNA cleavage of 2'-O-amino-linked metallo-porphyrin-oligonucleotide conjugates, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* [18], Seite 3088-3095.
- Dubey, K. K.; Singh, R. K. und Misra, K. (1997): A novel fluorescent tag for labelling of some antisense oligonucleotides, *Neurochemistry International* 31 [3], Seite 405-412.
- Duguid, J. G.; Bloomfield, V. A.; Benevides, J. M. und Thomas, G. J. (1996): DNA melting investigated by differential scanning calorimetry and Raman spectroscopy, *Biophysical Journal* 71 [6], Seite 3350-3360.
- Elenkov, I. J.; Todorova, D. I.; Bankova, V. S. und Milkova, T. S. (1995): Synthesis of Steryl Esters of Phenolic-Acids by a Heterogeneous Wittig Reaction, *Journal of Natural Products-Lloydia* 58 [2], Seite 280-283.
- Farooqui, F.; Sarin, P. S.; Sun, D. und Letsinger, R. L. (1991): Effect of Structural Variations in Cholesteryl-Conjugated Oligonucleotides on Inhibitory Activity toward Hiv-1, *Bioconjugate Chemistry* 2 [6], Seite 422-426.
- Felgner, P. L.; Gadek, T. R.; Holm, M.; Roman, R.; Chan, H. W.; Wenz, M.; Northrop, J. P.; Ringold, G. M. und Danielsen, M. (1987): Lipofection - a Highly Efficient, Lipid-Mediated DNA-Transfection Procedure, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 [21], Seite 7413-7417.
- Fiddian, A. P. (1995): Valaciclovir - an Improved Treatment for Individuals with Hiv Aids, *Antiviral Chemistry & Chemotherapy* 6, Seite 51-53.
- Fire, A.; Xu, S. Q.; Montgomery, M. K.; Kostas, S. A.; Driver, S. E. und Mello, C. C. (1998): Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*, *Nature* 391 [6669], Seite 806-811.
- Flasche, W. (2005): Grundlagen zur Synthese lipophil modifizierter Nucleoside und Oligonucleotide und deren biophysikalische sowie NMR-spektroskopisch-physikalische Untersuchungen, Institut für Chemie, Humboldt - Universität, Berlin.
- Flasche, W.; Cismas, C.; Herrmann, A. und Liebscher, J. (2004): Lipophilic nucleosides by Sonogashira coupling, *Synthesis-Stuttgart* [14], Seite 2335-2341.
- Förting, Anton (2008): Monomolekulare Lipopolymerschichten zum Aufbau von biomimetischen Lipid-membranmodellen Technische Universität München, Technische Universität München, München.
- Fortini, M.; Berti, D.; Baglioni, P. und Ninham, B. W. (2004): Specific anion effects on the aggregation properties of anionic nucleolipids, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 9 [1-2], Seite 168-172.
- Fu, G. C.; Netherton, M. R.; Kirchhoff, J. H.; Dai, C. Y. und Neuschütz, K. (2002): Recent advances in palladium-catalyzed coupling reactions., *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 224, Seite U206-U206.
- Furusawa, K.; Ueno, K. und Katsura, T. (1990): Synthesis and Restricted Conformation of 3',5'-O-(Di-Tert-Butylsilanediyl)Ribonucleosides, *Chemistry Letters* [1], Seite 97-100.

- Gao, X. und Huang, L. (1991): A Novel Cationic Liposome Reagent for Efficient Transfection of Mammalian-Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 179 [1], Seite 280-285.
- Gaur, R. K. (1991): Introduction of 5'-Terminal Amino and Thiol-Groups into Synthetic Oligonucleotides, *Nucleosides & Nucleotides* 10 [4], Seite 895-909.
- Geoffrey, Burnstock (1978): A basis for distinguishing two types of purinergic receptor., L., Bolis, *Cell membrane receptors for drugs and hormones: a multidisciplinary approach*, Raven Press, New York.
- Gil, M. V.; Arevalo, M. J. und Lopez, O. (2007): Click chemistry - What's in a name? Triazole synthesis and beyond, *Synthesis-Stuttgart* [11], Seite 1589-1620.
- Gilbert, W. (1986): Origin of Life - the Rna World, *Nature* 319 [6055], Seite 618-618.
- Giorgi, T.; Lena, S.; Mariani, P.; Cremonini, M. A.; Masiero, S.; Pieraccini, S.; Rabe, J. P.; Samori, P.; Spada, G. P. und Gottarelli, G. (2003): Supramolecular helices via self-assembly of 8-oxoguanosines, *Journal of the American Chemical Society* 125 [48], Seite 14741-14749.
- Gissot, A.; Camplo, M.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2008): Nucleoside, nucleotide and oligonucleotide based amphiphiles: a successful marriage of nucleic acids with lipids, *Organic & Biomolecular Chemistry* 6 [8], Seite 1324-1333.
- Gleave, M. E. und Monia, B. P. (2005): Antisense therapy for cancer, *Nature Reviews Cancer* 5 [6], Seite 468-479.
- Goliaszewski, A. und Schwartz, J. (1984): Carbon Carbon Bond Formation by Induced Elimination from Unsymmetrically Substituted (Allyl)(Allyl') Palladium Complexes, *Journal of the American Chemical Society* 106 [17], Seite 5028-5030.
- Gottarelli, G.; Masiero, S.; Mezzina, E.; Pieraccini, S.; Rabe, J. P.; Samori, P. und Spada, G. P. (2000): The self-assembly of lipophilic guanosine derivatives in solution and on solid surfaces, *Chemistry-a European Journal* 6 [17], Seite 3242-3248.
- Gramlich, P. M. E.; Warncke, S.; Gierlich, J. und Carell, T. (2008): Click-click-click: Single to triple modification of DNA, *Angewandte Chemie-International Edition* 47 [18], Seite 3442-3444.
- Gramlich, P. M. E.; Wirges, C. T.; Gierlich, J. und Carell, T. (2008): Synthesis of modified DNA by PCR with alkyne-bearing purines followed by a click reaction, *Organic Letters* 10 [2], Seite 249-251.
- Gritsenko, O. M.; Koudan, E. V.; Mikhailov, S. N.; Ermolinsky, B. S.; Van Aerschot, A.; Herdewijn, P. und Gromova, E. S. (2002): Affinity modification of EcoRII DNA methyltransferase by the dialdehyde-substituted DNA duplexes: Mapping the enzyme region that interacts with DNA, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 21 [11-12], Seite 753-764.
- Hamm, M. L. und Piccirilli, J. A. (1997): Incorporation of 2'-deoxy-2'-mercaptocytidine into oligonucleotides via phosphoramidite chemistry, *Journal of Organic Chemistry* 62 [10], Seite 3415-3420.
- Hampton, A. und Nichol, A. W. (1966): Nucleotides .V. Purine Ribonucleoside 2',3'-Cyclic Carbonates . Preparation and Use for Synthesis of 5'-Monosubstituted Nucleosides, *Biochemistry* 5 [6], Seite 2076-&.

- Hanelt, S. und Liebscher, J. (2008): A novel and versatile access to task-specific ionic liquids based on 1,2,3-triazolium salts, *Synlett* [7], Seite 1058-1060.
- Harusawa, S.; Yoshida, K.; Kojima, C.; Araki, L. und Kurihara, T. (2004): Design and synthesis of an aminobenzo-15-crown-5-labeled estradiol tethered with disulfide linkage, *Tetrahedron* 60 [51], Seite 11911-11922.
- Herdewijn, P. (2000): Heterocyclic modifications of oligonucleotides and antisense technology, *Antisense & Nucleic Acid Drug Development* 10 [4], Seite 297-310.
- Heuvingh, J.; Pincet, F. und Cribier, S. (2004): Hemifusion and fusion of giant vesicles induced by reduction of inter-membrane distance, *European Physical Journal E* 14 [3], Seite 269-276.
- Hirao, I.; Kimoto, M.; Mitsui, T.; Fujiwara, T.; Kawai, R.; Sato, A.; Harada, Y. und Yokoyama, S. (2006): An unnatural hydrophobic base pair system: site-specific incorporation of nucleotide analogs into DNA and RNA, *Nature Methods* 3 [9], Seite 729-735.
- Holmlin, R. E.; Dandliker, P. J. und Barton, J. K. (1999): Synthesis of metallointercalator-DNA conjugates on a solid support, *Bioconjugate Chemistry* 10 [6], Seite 1122-1130.
- Hope, M. J.; Bally, M. B.; Webb, G. und Cullis, P. R. (1985): Production of Large Unilamellar Vesicles by a Rapid Extrusion Procedure - Characterization of Size Distribution, Trapped Volume and Ability to Maintain a Membrane-Potential, *Biochimica Et Biophysica Acta* 812 [1], Seite 55-65.
- Huang, J. G.; Ding, D. Y.; Zhang, Z. Q.; Shi, B. und Liang, Y. Q. (1997): Synthesis of novel nucleolipid amphiphiles, *Synthetic Communications* 27 [4], Seite 681-690.
- Huang, J. G.; Li, C. und Liang, Y. Q. (2000): FT-SERS studies on molecular recognition capabilities of monolayers of novel nucleolipid amphiphiles, *Langmuir* 16 [8], Seite 3937-3940.
- Huang, J. G. und Liang, Y. Q. (1997): Fourier transform infrared spectroscopic investigation on Langmuir-Blodgett films of octadecanoyl ester of 1-(2-carboxyethyl) thymine: Molecular orientation, molecular recognition to complementary base of nucleic acid and order-disorder transition, *Spectroscopy Letters* 30 [7], Seite 1441-1466.
- Huang, J. G. und Liang, Y. Q. (1998): Molecular recognition of nucleolipid amphiphile octadecanoyl ester of 1-(2-carboxyethyl) adenine to the complementary nucleobases: Part II. a Fourier transform infrared spectroscopic study of Langmuir-Blodgett films, *Thin Solid Films* 325 [1-2], Seite 210-217.
- Huang, J. Q. und Liang, Y. Q. (1998): Molecular recognition of nucleolipid amphiphile octadecanoyl ester of 1-(2-carboxyethyl) adenine to the complementary nucleobases. Part I: characterization of the monolayer behavior at the air/water interface and photodimerization in the Langmuir-Blodgett film matrix under ultraviolet irradiation, *Thin Solid Films* 326 [1-2], Seite 217-222.
- Huisgen, R. (1963): 1,3-Dipolare Cycloadditionen - Ruckschau Und Ausblick, *Angewandte Chemie-International Edition* 75 [13], Seite 604-+.
- Huisgen, Rolf (1984): 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry 2, Wiley - VCH, New York, ISBN: 0-471-00354-X.

- Hunter, R.; Caira, M. und Stellenboom, N. (2006): Inexpensive, one-pot synthesis of unsymmetrical disulfides using 1-chlorobenzotriazole, *Journal of Organic Chemistry* 71 [21], Seite 8268-8271.
- Huster, D.; Arnold, K. und Gawrisch, K. (1999): Investigation of lipid organization in biological membranes by two-dimensional nuclear overhauser enhancement spectroscopy, *Journal of Physical Chemistry B* 103 [1], Seite 243-251.
- Ishiyama, T.; Miyaura, N. und Suzuki, A. (1991): Palladium-Catalyzed Carbonylative Cross-Coupling Reaction of Iodoalkanes with 9-Alkyl-9-Bbn Derivatives - a Direct and Selective Synthesis of Ketones, *Tetrahedron Letters* 32 [47], Seite 6923-6926.
- Iwaura, R.; Kikkawa, Y.; Ohnishi-Kameyama, M. und Shimizu, T. (2007): Effects of oligoDNA template length and sequence on binary self-assembly of a nucleotide bolaamphiphile, *Organic & Biomolecular Chemistry* 5 [21], Seite 3450-3455.
- Iwaura, R.; Yoshida, K.; Masuda, M.; Ohnishi-Kameyama, M.; Yoshida, M. und Shimizu, T. (2003): Oligonucleotide-templated self-assembly of nucleotide bolaamphiphiles: DNA-like nanofibers edged by a double-helical arrangement of A-T base pairs, *Angewandte Chemie-International Edition* 42 [9], Seite 1009-+.
- Iwaura, R.; Yoshida, K.; Masuda, M.; Yase, K. und Shimizu, T. (2002): Spontaneous fiber formation and hydrogelation of nucleotide bolaamphiphiles, *Chemistry of Materials* 14 [7], Seite 3047-3053.
- Izatt, R. M.; Hansen, L. D.; Rytting, J. H. und Christen, J. (1965): Proton Ionization from Adenosine, *Journal of the American Chemical Society* 87 [12], Seite 2760-&.
- Jakobsen, U.; Simonsen, A. C. und Vogel, S. (2008): DNA-controlled assembly of soft nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society* 130 [32], Seite 10462-+.
- Jatsch, A.; Kopyshev, A.; Mena-Osteritz, E. und Bauerle, P. (2008): Self-organizing oligothiophene-nucleoside conjugates: Versatile synthesis via "Click"-Chemistry, *Organic Letters* 10 [5], Seite 961-964.
- Jawalekar, A. M.; Meeuwenoord, N.; Cremers, J. G. O.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Rutjes, F. P. J. T. und van Delft, F. L. (2008): Conjugation of nucleosides and oligonucleotides by [3+2] cycloaddition, *Journal of Organic Chemistry* 73 [1], Seite 287-290.
- Jin, Y. G.; Qiao, Y. X. und Hou, X. P. (2006): The effects of chain number and state of lipid derivatives of nucleosides on hydrogen bonding and self-assembly through the investigation of Langmuir-Blodgett films, *Applied Surface Science* 252 [22], Seite 7926-7929.
- Jocelyn, P. C. (1987): Chemical-Reduction of Disulfides, *Methods in Enzymology* 143, Seite 246-256.
- Johnson, R.; Reese, C. B. und Peizhuo, Z. (1995): Lability of Glycosidic Linkages of 2'-Thio-Ribonucleosides, *Tetrahedron* 51 [17], Seite 5093-5098.
- Jones, R. C. F.; Smallridge, M. J. und Chapleo, C. B. (1990): Tetrahydrofolate Coenzyme Models - Synthesis of Tetrahydroimidazoisoquinolines and Tetrahydroimidazoquinolines, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* [2], Seite 385-391.
- Joyce, G. F. (2002): The antiquity of RNA-based evolution, *Nature* 418 [6894], Seite 214-221.

Jurak, M. und Chibowski, E. (2006): Topography and surface free energy of DPPC layers deposited on a glass, mica, or PMMA support, *Langmuir* 22 [17], Seite 7226-7234.

Jurak, M. und Chibowski, E. (2007): Wettability and topography of phospholipid DPPC multilayers deposited by spin-coating on glass, silicon, and mica slides, *Langmuir* 23 [20], Seite 10156-10163.

Kachalova, A. V.; Zatsepin, T. S.; Romanova, E. A.; Stetsenko, D. A.; Gait, M. J. und Oretskaya, T. S. (2000): Synthesis of modified nucleotide building blocks containing electrophilic groups in the 2'-position, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 19 [10-12], Seite 1693-1707.

Kaczmarek, O.; Brodersen, N.; Bunge, A.; Loser, L.; Huster, D.; Herrmann, A.; Arbuzova, A. und Liebscher, J. (2008): Synthesis of nucleosides with 2'-fixed lipid anchors and their behavior in phospholipid membranes, *European Journal of Organic Chemistry* [11], Seite 1917-1928.

Karpyshev, N. N.; Bondarenko, T. Y.; Vtorushina, I. A. und Kipriyanov, S. M. (1991): Introduction of Aminoalkyl Functions into Synthesized Oligodeoxyribonucleotides Via Transamination of Cytosine Residues, *Bioorganicheskaya Khimiya* 17 [6], Seite 809-812.

Kates, M.; Stanacev, N. Z. und Chan, T. H. (1963): Aliphatic Diether Analogs of Glyceride-Derived Lipids .1. Synthesis of D-Alpha,Beta-Dialkyl Glyceryl Ethers, *Biochemistry* 2 [2], Seite 394-&.

Kawahara, T.; Kurihara, K. und Kunitake, T. (1992): Cooperative Binding of Adenine Via Complementary Hydrogen-Bonding to an Imide Functionalized Monolayer at the Air-Water-Interface, *Chemistry Letters* [9], Seite 1839-1842.

Kawasaki, A. M.; Casper, M. D.; Freier, S. M.; Lesnik, E. A.; Zounes, M. C.; Cummins, L. L.; Gonzalez, C. und Cook, P. D. (1993): Uniformly Modified 2'-Deoxy-2'-Fluoro Phosphorothioate Oligonucleotides as Nuclease-Resistant Antisense Compounds with High-Affinity and Specificity for Rna Targets, *Journal of Medicinal Chemistry* 36 [7], Seite 831-841.

Kim, Hyun Ryoung; Kim, In Kyoung; Bae, Ki Hyun; Lee, Soo Hyeon; Yuhon Lee und Park, Tae Gwan (2008): Cationic Solid Lipid Nanoparticles Reconstituted from Low Density Lipoprotein Components for Delivery of siRNA, *MOLECULAR PHARMACEUTICS*.

Kim, S. J.; Bang, E. K.; Kwon, H. J.; Shim, J. S. und Kim, B. H. (2004): Modified oligonucleotides containing lithocholic acid in their backbones: Their enhanced cellular uptake and their mimicking of hairpin structures, *Chembiochem* 5 [11], Seite 1517-1522.

Kirchhoff, J. H.; Netherton, M. R.; Hills, I. D. und Fu, G. C. (2002): Boronic acids: New coupling partners in room-temperature suzuki reactions of alkyl bromides. Crystallographic characterization of an oxidative-addition adduct generated under remarkably mild conditions, *Journal of the American Chemical Society* 124 [46], Seite 13662-13663.

Kirschenheuter, G. P.; Zhai, Y. S. und Pieken, W. A. (1994): An Improved Synthesis of 2'-Azido-2'-Deoxyuridine, *Tetrahedron Letters* 35 [46], Seite 8517-8520.

Kobori, A.; Mori, T.; Ubayashi, M. und Murakami, A. (2008): Naphthyridine-tethered oligodeoxyribonucleotides: Dye/DNA conjugates for homogeneous SNPs assays, *Chemistry Letters* 37 [3], Seite 354-355.

Kolb, H. C.; Finn, M. G. und Sharpless, K. B. (2001): Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions, *Angewandte Chemie-International Edition* 40 [11], Seite 2004-+.

Korshun, V. A. und Berlin, Y. A. (1994): Introduction of Nonradioactive Reporter Groups into Synthetic Oligonucleotides and Their Detection, *Bioorganicheskaya Khimiya* 20 [6], Seite 565-616.

Korshun, V. A.; Stetsenko, D. A. und Gait, M. J. (2002): Novel uridin-2'-yl carbamates: synthesis, incorporation into oligodeoxyribonucleotides, and remarkable fluorescence properties of 2'-pyren-1-ylmethylcarbamate, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* [8], Seite 1092-1104.

Kottysch, T.; Ahlborn, C.; Brotzel, F. und Richert, C. (2004): Stabilizing or destabilizing oligodeoxynucleotide duplexes containing single 2'-deoxyuridine residues with 5-alkynyl substituents, *Chemistry-a European Journal* 10 [16], Seite 4017-4028.

Krieg, A. M.; Tonkinson, J.; Matson, S.; Zhao, Q. Y.; Saxon, M.; Zhang, L. M.; Bhanja, U.; Yakubov, L. und Stein, C. A. (1993): Modification of Antisense Phosphodiester Oligodeoxynucleotides by a 5' Cholesteryl Moiety Increases Cellular-Association and Improves Efficacy, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 [3], Seite 1048-1052.

Krutzfeldt, J.; Rajewsky, N.; Braich, R.; Rajeev, K. G.; Tuschl, T.; Manoharan, M. und Stoffel, M. (2005): Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs', *Nature* 438 [7068], Seite 685-689.

Kubo, T.; Dubey, K. und Fujii, M. (2001): A novel approach for the solid phase synthesis of DNA-peptide conjugates, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 20 [4-7], Seite 1321-1324.

Kulikowski, T. (1994): Structure-Activity-Relationships and Conformational Features of Antiherpetic Pyrimidine and Purine Nucleoside Analogs - a Review, *Pharmacy World & Science* 16 [2], Seite 127-138.

Kurreck, J. (2003): Antisense technologies - Improvement through novel chemical modifications, *European Journal of Biochemistry* 270 [8], Seite 1628-1644.

Kurz, A.; Bunge, A.; Windeck, A. K.; Rost, M.; Flasche, W.; Arbuzova, A.; Strohbach, D.; Mueller, S.; Lieb-scher, J.; Huster, D. und Herrmann, A. (2006): Lipid-anchored oligonucleotides for stable double-helix formation in distinct membrane domains, *Angewandte Chemie-International Edition* 45 [27], Seite 4440-4444.

Kusmann-Gerber, S.; Wurth, C.; Scapozza, L.; Pilger, B. D.; Pliska, V. und Folkers, G. (1999): Interaction of the recombinant Herpes Simplex Virus type 1 thymidine kinase with thymidine and aciclovir: A kinetic study, *Nucleosides & Nucleotides* 18 [3], Seite 311-330.

Langmuir, I. (1916): The constitution and fundamental properties of solids and liquids Part I Solids, *Journal of the American Chemical Society* 38, Seite 2221-2295.

Langmuir, I. (1917): The constitution and fundamental properties of solids and liquids. II. Liquids., *Journal of the American Chemical Society* 39, Seite 1848-1906.

Lesnik, E. A.; Guinosso, C. J.; Kawasaki, A. M.; Sasmor, H.; Zounes, M.; Cummins, L. L.; Ecker, D. J.; Cook, P. D. und Freier, S. M. (1993): Oligodeoxynucleotides Containing 2'-O-Modified Adenosine - Synthesis and Effects on Stability of DNA-Rna Duplexes, *Biochemistry* 32 [30], Seite 7832-7838.

Letsinger, R. L.; Chaturvedi, S. K.; Farooqui, F. und Salunkhe, M. (1993): Use of Hydrophobic Substituents in Controlling Self-Assembly of Oligonucleotides, *Journal of the American Chemical Society* 115 [16], Seite 7535-7536.

Levene, P. A. und Bass, L. W. (1926): The action of hydrazine hydrate on uridine., *Journal of Biological Chemistry* 71 [1], Seite 167-172.

Li, C.; Huang, J. G. und Liang, Y. Q. (2000): Molecular recognition capabilities of a nucleolipid amphiphile (3',5'-distearoyl)-2'-deoxythymidine to adenosine at the air/water interface and Langmuir-Blodgett films studied by molecular spectroscopy, *Langmuir* 16 [20], Seite 7701-7707.

Li, C.; Huang, J. G. und Liang, Y. Q. (2001): Spectroscopic studies on molecular recognition capabilities of a nucleolipid bearing thymine headgroup to adenosine, *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 57 [8], Seite 1587-1593.

Li, C.; Huang, J. G. und Liang, Y. Q. (2001): Structure control on photodimerization of uracil and thymine moieties in nucleolipid Langmuir-Blodgett films by the molecular recognition effect at the air/water interface, *Langmuir* 17 [7], Seite 2228-2234.

Li, W. J. und Szoka, F. C. (2007): Lipid-based nanoparticles for nucleic acid delivery, *Pharmaceutical Research* 24 [3], Seite 438-449.

Li, X. M.; Ng, M. T. T.; Wang, Y. F.; Liu, X. Q. und Li, T. H. (2007): Dumbbell-shaped circular oligonucleotides as inhibitors of human topoisomerase I, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 [17], Seite 4967-4971.

Liu, D.; Gao, W. Z.; Dai, Q. und Zhang, X. M. (2005): Triazole-based monophosphines for Suzuki-Miyaura coupling and amination reactions of aryl chlorides, *Organic Letters* 7 [22], Seite 4907-4910.

Loew, M.; Kang, J.; Daehne, L.; Hendus-Altenburger, R.; Kaczmarek, O.; Liebscher, J.; Huster, D.; Ludwig, K.; Böttcher, C.; Herrmann, A. und Arbuzova, A. (2008): Controlled Assembly of Vesicle-based Nanocontainers on Layer-by-Layer Particles via

DNA Hybridization, *SMALL* submitted.

Lorenz, C.; Hadwiger, P.; John, M.; Vornlocher, H. P. und Unverzagt, C. (2004): Steroid and lipid conjugates of siRNAs to enhance cellular uptake and gene silencing in liver cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14 [19], Seite 4975-4977.

Manfredini, S.; Baraldi, P. G.; Durini, E.; Porcu, L.; Angusti, A.; Vertuani, S.; Solaroli, N.; De Clercq, E.; Karlsson, A. und Balzarini, J. (2001): Design, synthesis and enzymatic activity of highly selective human mitochondrial thymidine kinase inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 11 [10], Seite 1329-1332.

Manoharan, M. (2002): Oligonucleotide conjugates as potential antisense drugs with improved uptake, biodistribution, targeted delivery, and mechanism of action, *Antisense & Nucleic Acid Drug Development* 12 [2], Seite 103-128.

Manoharan, M. (2004): RNA interference and chemically modified small interfering RNAs, *Current Opinion in Chemical Biology* 8 [6], Seite 570-579.

Manoharan, M.; Guinosso, C. J. und Cook, P. D. (1991): Novel Functionalization of the Sugar Moiety of Nucleic-Acids for Multiple Labeling in the Minor Groove, *Tetrahedron Letters* 32 [49], Seite 7171-7174.

Manoharan, M.; Inamati, G.; Tivel, K. L.; Conklin, B.; Ross, B. S. und Cook, P. D. (1997): 2'- and 3'-cholesterol-conjugated adenosine and cytosine nucleoside building blocks: Synthesis of lipidic nucleic acids, *Nucleosides & Nucleotides* 16 [7-9], Seite 1141-1143.

Manoharan, M.; Johnson, L. K.; Mcgee, D. P. C.; Guinosso, C. J.; Ramasamy, K.; Springer, R. H.; Bennett, C. F.; Ecker, D. J.; Vickers, T.; Cowser, L. und Cook, P. D. (1992): Chemical Modifications to Improve Uptake and Bioavailability of Antisense Oligonucleotides, *Annals of the New York Academy of Sciences* 660, Seite 306-309.

Manoharan, M.; Johnson, L. K.; Tivel, K. L.; Springer, R. H. und Cook, P. D. (1993): Introduction of a Lipophilic Thioether Tether in the Minor-Groove of Nucleic-Acids for Antisense Applications, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 3 [12], Seite 2765-2770.

Manoharan, M.; Tivel, K. L.; Condon, T. P.; Andrade, L. K.; Barber-Peoch, I.; Inamati, G.; Shah, S.; Mohan, V.; Graham, M. J.; Bennett, C. F.; Crooke, S. T. und Cook, P. D. (1997): Conjugated antisense oligonucleotides, *Nucleosides & Nucleotides* 16 [7-9], Seite 1129-1138.

Manoharan, M.; Tivel, K. L. und Cook, P. D. (1995): Lipidic Nucleic-Acids, *Tetrahedron Letters* 36 [21], Seite 3651-3654.

Mao, C. D.; LaBean, T. H.; Reif, J. H. und Seeman, N. C. (2000): Logical computation using algorithmic self-assembly of DNA triple-crossover molecules, *Nature* 407 [6803], Seite 493-496.

Markiewicz, W. T. (1979): Tetraisopropylidisiloxane-1,3-Diyl, a Group for Simultaneous Protection of 3'-Hydroxy and 5'-Hydroxy Functions of Nucleosides, *Journal of Chemical Research-S* [1], Seite 24-25.

Martin, P. (1996): Stereoselective synthesis of 2'-O-(2-methoxyethyl)ribonucleosides: Neighboring-group participation of the methoxyethoxy group in the ribosylation step, *Helvetica Chimica Acta* 79 [7], Seite 1930-1938.

Maru, N.; Shohda, K. I. und Sugawara, T. (2008): Successive fusion of vesicles aggregated by DNA duplex formation in the presence of triton X-100, *Chemistry Letters* 37 [3], Seite 340-341.

Maruyama, T.; Hosogi, T. und Goto, M. (2007): Sequence-selective extraction of single-stranded DNA using DNA-functionalized reverse micelles, *Chemical Communications* [43], Seite 4450-4452.

Mathivet, L.; Cribier, S. und Devaux, P. F. (1996): Shape change and physical properties of giant phospholipid vesicles prepared in the presence of an AC electric field, *Biophysical Journal* 70 [3], Seite 1112-1121.

McCutchan, J. und Pagano, J. S. (1968): Enhancement of Infectivity of Simian Virus 40 Deoxyribonucleic Acid with Diethylaminoethyl-Dextran, *Journal of the National Cancer Institute* 41 [2], Seite 351-+.

McGee, D. P. C.; Vaughn-Settle, A.; Vargese, C. und Zhai, Y. S. (1996): 2'-Amino-2'-deoxyuridine via an intramolecular cyclization of a trichloroacetimidate, *Journal of Organic Chemistry* 61 [2], Seite 781-785.

McLaughlin, L. W.; Piel, N. und Hellmann, T. (1985): Preparation of Protected Ribonucleosides Suitable for Chemical Oligoribonucleotide Synthesis, *Synthesis-Stuttgart* [3], Seite 322-323.

- Meister, A.; Nicolini, C.; Waldmann, H.; Kuhlmann, J.; Kerth, A.; Winter, R. und Blume, A. (2006): Insertion of lipidated Ras proteins into lipid monolayers studied by infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS), *Biophysical Journal* 91 [4], Seite 1388-1401.
- Mestre, B.; Jakobs, A.; Pratviel, G. und Meunier, B. (1996): Structure/nuclease activity relationships of DNA cleavers based on cationic metalloporphyrin-oligonucleotide conjugates, *Biochemistry* 35 [28], Seite 9140-9149.
- Miao, W. E.; Luo, X. H. und Liang, Y. Q. (2003): Molecular recognition of 7-(2-octadecyloxycarbonylethyl)guanine to cytidine at the air/water interface and LB film studied by Fourier transform infrared spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 59 [5], Seite 1045-1050.
- Miao, W. G.; Du, X. Z. und Liang, Y. Q. (2003): Molecular recognition of 1-(2-octadecyloxycarbonylethyl)cytosine monolayers to guanosine at the air-water interface investigated by infrared reflection-absorption spectroscopy 107 [49], Seite 13636-13642.
- Miao, W. G.; Du, X. Z. und Liang, Y. Q. (2003): Molecular recognition of nucleolipid monolayers of 1-(2-octadecyloxycarbonylethyl)cytosine to guanosine at the air-water interface and Langmuir-Blodgett films, *Langmuir* 19 [13], Seite 5389-5396.
- Milani, S.; Bombelli, F. B.; Berti, D. und Baglioni, P. (2007): Nucleolipoplexes: A new paradigm for phospholipid bilayer-nucleic acid interactions, *Journal of the American Chemical Society* 129 [38], Seite 11664-+.
- Milani, S.; Bombelli, F. B.; Berti, D.; Dante, S.; Hauss, T. und Baglioni, P. (2008): Nucleolipid membranes : structure and molecular recognition, *Journal of Physics-Condensed Matter* 20 [10], Seite -.
- Milhiet, P. E.; Gubellini, F.; Berquand, A.; Dosset, P.; Rigaud, J. L.; Le Grimmellec, C. und Levy, D. (2006): High-resolution AFM of membrane proteins directly incorporated at high density in planar lipid bilayer, *Biophysical Journal* 91 [9], Seite 3268-3275.
- Miller, P. S.; Braiterman, L. T. und Tso, P. O. P. (1977): Alkyl Phosphotriesters of Dinucleotides + Oligonucleotides .7. Effects of a Trinucleotide Ethyl Phosphotriester, Gmp(Et)Gmp(Et)U, on Mammalian-Cells in Culture, *Biochemistry* 16 [9], Seite 1988-1996.
- Misra, A.; Mishra, S. und Misra, K. (2004): Synthesis and fluorescence studies of multiple labeled oligonucleotides containing dansyl fluorophore covalently attached at 2'-terminus of cytidine via carbamate linkage, *Bioconjugate Chemistry* 15 [3], Seite 638-646.
- Monia, B. P.; Lesnik, E. A.; Gonzalez, C.; Lima, W. F.; McGee, D.; Guinasso, C. J.; Kawasaki, A. M.; Cook, P. D. und Freier, S. M. (1993): Evaluation of 2'-Modified Oligonucleotides Containing 2'-Deoxy Gaps as Antisense Inhibitors of Gene-Expression, *Journal of Biological Chemistry* 268 [19], Seite 14514-14522.
- Moorthy, J. N. und Singhal, N. (2005): Facile and highly selective conversion of nitriles to amides via indirect acid-catalyzed hydration using TFA or AcOH-H₂SO₄, *Journal of Organic Chemistry* 70 [5], Seite 1926-1929.
- Moreau, L.; Barthelemy, P.; El Maataoui, M. und Grinstaff, M. W. (2004): Supramolecular assemblies of nucleoside phosphocholine amphiphiles, *Journal of the American Chemical Society* 126 [24], Seite 7533-7539.

- Moreau, L.; Campins, N.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2006): A fluorocarbon nucleoamphiphile for the construction of actinide loaded microspheres, *Tetrahedron Letters* 47 [39], Seite 7117-7120.
- Moreau, L.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2005): Vesicle formation from a synthetic adenosine based lipid, *Tetrahedron Letters* 46 [10], Seite 1593-1596.
- Moreau, L.; Ziarelli, F.; Grinstaff, M. W. und Barthelemy, P. (2006): Self-assembled microspheres from f-block elements and nucleoamphiphiles, *Chemical Communications* [15], Seite 1661-1663.
- Moya, S.; Richter, W.; Leporatti, S.; Baumler, H. B. und Donath, E. (2003): Freeze-fracture electron microscopy of lipid membranes on colloidal polyelectrolyte multilayer coated supports, *Biomacromolecules* 4 [3], Seite 808-814.
- Mukaiyam.T und Takahash.K (1968): A Convenient Method for Preparation of Unsymmetrical Disulfides by Use of Diethyl Azodicarboxylate, *Tetrahedron Letters* [56], Seite 5907-&.
- Muller, D. J. (2008): AFM: a nanotool in membrane biology, *Biochemistry* 47 [31], Seite 7986-7998.
- Murakami, A.; Mukae, M.; Nagahara, S.; Konishi, Y.; Ide, H. und Makino, K. (1993): Oligonucleotides Site-Specifically Spin-Labeled at 5'-Terminal or Internucleotide Linkage and Their Use in Gene Analyses, *Free Radical Research Communications* 19, Seite S117-S128.
- Murray, D.; Matsumoto, L. H.; Buser, C. A.; Tsang, J.; Sigal, C. T.; Ben-Tal, N.; Honig, B.; Resh, M. D. und McLaughlin, S. (1998): Electrostatics and the membrane association of Src: Theory and experiment, *Biochemistry* 37 [8], Seite 2145-2159.
- Nakamura, F. und Hara, M. (2002): Hybridization of polynucleotides using self-assembled monolayer containing pyrenyl groups, *Molecular Crystals and Liquid Crystals* 377, Seite 57-60.
- Nakamura, M.; Matsuo, K.; Ito, S. und Nakamura, B. (2004): Iron-catalyzed cross-coupling of primary and secondary alkyl halides with aryl Grignard reagents, *Journal of the American Chemical Society* 126 [12], Seite 3686-3687.
- Nakane, M.; Ichikawa, S. und Matsuda, A. (2008): Triazole-linked dumbbell oligodeoxynucleotides with NF-kappa B binding ability as potential decoy molecules, *Journal of Organic Chemistry* 73 [5], Seite 1842-1851.
- Netherton, M. R.; Dai, C. Y.; Neuschutz, K. und Fu, G. C. (2001): Room-temperature alkyl-alkyl Suzuki cross-coupling of alkyl bromides that possess beta hydrogens, *Journal of the American Chemical Society* 123 [41], Seite 10099-10100.
- Netherton, M. R. und Fu, G. C. (2002): Suzuki cross-couplings of alkyl tosylates that possess beta hydrogen atoms: Synthetic and mechanistic studies, *Angewandte Chemie-International Edition* 41 [20], Seite 3910-3912.
- Neumann, E.; Schaefferidder, M.; Wang, Y. und Hofschneider, P. H. (1982): Gene-Transfer into Mouse Lyoma Cells by Electroporation in High Electric-Fields, *Embo Journal* 1 [7], Seite 841-845.
- Neumann, H.; Shashoua, V. E.; Sheehan, J. C. und Rich, A. (1968): Intramolecular Acyl Migration in Adenosine Derivatives, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 61 [4], Seite 1207-&.

- Nishihara, M.; Perret, F.; Takeuchi, T.; Futaki, S.; Lazar, A. N.; Coleman, A. W.; Sakai, N. und Matile, S. (2005): Arginine magic with new counterions up the sleeve, *Organic & Biomolecular Chemistry* 3 [9], Seite 1659-1669.
- Nowak, I.; Conda-Sheridan, M. und Robins, M. J. (2005): Nucleic acid related compounds. 127. Selective N-deacylation of N,O-peracylated nucleosides in superheated methanol, *Journal of Organic Chemistry* 70 [18], Seite 7455-7458.
- Nowick, J. S.; Chen, J. S. und Noronha, G. (1993): Molecular Recognition in Micelles - the Roles of Hydrogen-Bonding and Hydrophobicity in Adenine Thymine Base-Pairing in Sds Micelles, *Journal of the American Chemical Society* 115 [17], Seite 7636-7644.
- Nowick, J. S.; Chen, J. S. und Noronha, G. (1993): Systematic Study of Molecular Recognition in Aqueous Micelles, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 205, Seite 312-ORGN.
- Ogilvie, K. K. und Iwacha, D. (1969): Conversion of Uridine 2',3'-Carbonates to Anhydrouridines, *Canadian Journal of Chemistry* 47 [3], Seite 495-&.
- Olofsson, L.; Rindzevicius, T.; Pfeiffer, I.; Kall, M. und Hook, F. (2003): Surface-based gold-nanoparticle sensor for specific and quantitative DNA hybridization detection, *Langmuir* 19 [24], Seite 10414-10419.
- Opalinska, J. B. und Gewirtz, A. M. (2002): Nucleic-acid therapeutics: Basic principles and recent applications, *Nature Reviews Drug Discovery* 1 [7], Seite 503-514.
- Ora, M.; Linjalahti, H. und Lonnberg, H. (2005): Phosphodiester cleavage of guanylyl-(3',3')-(2'-amino-2'-deoxyuridine): Rate acceleration by the 2'-amino function, *Journal of the American Chemical Society* 127 [6], Seite 1826-1832.
- Ozaki, H.; Momiyama, S.; Yokotsuka, K. und Sawai, H. (2001): Post-synthetic functionalization of oligodeoxyribonucleotides at the 2'-position, *Tetrahedron Letters* 42 [4], Seite 677-680.
- Ozaki, H.; Sato, Y.; Azuma, S. und Sawai, H. (2000): Synthesis of oligodeoxyribonucleotide bearing 2'-S-alkyl residue and its effect on the duplex stability, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 19 [3], Seite 593-601.
- Park, S. M.; Lee, Y. S. und Kim, B. H. (2003): Novel low-molecular-weight hydrogelators based on 2'-deoxyuridine, *Chemical Communications* [23], Seite 2912-2913.
- Patel, A. D.; Schrier, W. H. und Nagyvary, J. (1980): Synthesis and Properties of 2'-Deoxy-2'-Thiocytidine, *Journal of Organic Chemistry* 45 [24], Seite 4830-4834.
- Patel, A. D.; Schrier, W. H. und Nagyvary, J. J. (1980): Synthesis of 2'-Thio-2'-Deoxycytidine, a New Cyto-Toxic Agent, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 179 [Mar], Seite 13-Carb.
- Patolsky, F.; Lichtenstein, A. und Willner, I. (2001): Electronic transduction of DNA sensing processes on surfaces: Amplification of DNA detection and analysis of single-base mismatches by tagged liposomes, *Journal of the American Chemical Society* 123 [22], Seite 5194-5205.
- Peyratout, C. S. und Dahne, L. (2004): Tailor-made polyelectrolyte microcapsules: From multilayers to smart containers, *Angewandte Chemie-International Edition* 43 [29], Seite 3762-3783.

- Peyrottes, S.; Mestre, B.; Burlina, F. und Gait, M. J. (1998): The synthesis of peptide-oligonucleotide conjugates by a fragment coupling approach, *Tetrahedron* 54 [41], Seite 12513-12522.
- Pfeiffer, I. und Hook, F. (2004): Bivalent cholesterol-based coupling of oligonucleotides to lipid membrane assemblies, *Journal of the American Chemical Society* 126 [33], Seite 10224-10225.
- Pfeiffer, I. und Hook, F. (2006): Quantification of oligonucleotide modifications of small unilamellar lipid vesicles, *Analytical Chemistry* 78 [21], Seite 7493-7498.
- Pieraccini, S.; Giorgi, T.; Gottarelli, G.; Masiero, S. und Spada, G. P. (2003): Guanosine derivatives: Self-assembly and lyotropic liquid crystal formation, *Molecular Crystals and Liquid Crystals* 398, Seite 57-73.
- Pincet, F.; Lebeau, L. und Cribier, S. (2001): Short-range specific forces are able to induce hemifusion, *European Biophysics Journal with Biophysics Letters* 30 [2], Seite 91-97.
- Pincet, F.; Perez, E.; Bryant, G.; Lebeau, L. und Mioskowski, C. (1994): Long-Range Attraction between Nucleosides with Short-Range Specificity - Direct Measurements, *Physical Review Letters* 73 [20], Seite 2780-2783.
- Pincet, F.; Perez, E.; Bryant, G.; Lebeau, L. und Mioskowski, C. (1996): Specific forces between DNA bases, *Modern Physics Letters B* 10 [3-5], Seite 81-99.
- Pompeo, G.; Girasole, M.; Cricenti, A.; Cattaruzza, F.; Flamini, A.; Prosperi, T.; Generosi, J. und Castellano, A. C. (2005): AFM characterization of solid-supported lipid multilayers prepared by spin-coating, *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1712 [1], Seite 29-36.
- Porcher, S.; Meyyappan, M. und Pitsch, S. (2005): Spontaneous aminoacylation of a RNA sequence containing a 3'-terminal-2'-thioadenosine, *Helvetica Chimica Acta* 88 [11], Seite 2897-2909.
- Pozharski, E. und MacDonald, R. C. (2002): Thermodynamics of cationic lipid-DNA complex formation as studied by isothermal titration calorimetry, *Biophysical Journal* 83 [1], Seite 556-565.
- Pozharski, E. und MacDonald, R. C. (2003): Lipoplex thermodynamics: Determination of DNA-cationic lipid interaction energies, *Biophysical Journal* 85 [6], Seite 3969-3978.
- Prakash, T. P.; Kawasaki, A. M.; Fraser, A. S.; Vasquez, G. und Manoharan, M. (2002): Synthesis of 2'-O-[2-[(N,N-dimethylamino)oxy]ethyl] modified nucleosides and oligonucleotides, *Journal of Organic Chemistry* 67 [2], Seite 357-369.
- Prata, C. A. H.; Zhang, X. X.; Luo, D.; McIntosh, T. J.; Barthelemy, P. und Grinstaff, M. W. (2008): Lipophilic peptides for gene delivery, *Bioconjugate Chemistry* 19 [2], Seite 418-420.
- Ramirez, F.; Mandal, S. B. und Marecek, J. F. (1982): Nucleotidophospholipids - Oligonucleotide Derivatives with Membrane-Recognition Groups, *Journal of the American Chemical Society* 104 [20], Seite 5483-5486.
- Reese, C. B.; Simons, C. und Zhang, P. Z. (1994): The Synthesis of 2'-Thiouridylyl-(3'-[5']-Uridine, *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* [15], Seite 1809-1810.
- Reese, C. B. und Trentham, D. R. (1965): 2'-O-Acyl Ribonucleoside Derivatives, *Tetrahedron Letters* [29], Seite 2459-&.

- Reese, C. B. und Trentham, D. R. (1965): Acyl Migration in Ribonucleoside Derivatives, *Tetrahedron Letters* [29], Seite 2467-&.
- Reuther, G.; Tan, K. T.; Kohler, J.; Nowak, C.; Pampel, A.; Arnold, K.; Kuhlmann, J.; Waldmann, H. und Huster, D. (2006): Structural model of the membrane-bound C terminus of lipid-modified human N-ras protein, *Angewandte Chemie-International Edition* 45 [32], Seite 5387-5390.
- Reuther, G.; Tan, K. T.; Vogel, A.; Nowak, C.; Arnold, K.; Kuhlmann, J.; Waldmann, H. und Huster, D. (2006): The lipidated membrane anchor of full length N-Ras protein shows an extensive dynamics as revealed by solid-state NMR spectroscopy, *Journal of the American Chemical Society* 128 [42], Seite 13840-13846.
- Richert, C. und Grilmefeld, P. (2007): Synthesis and properties of oligonucleotides with acylamido substituents, *Synlett* [1], Seite 1-18.
- Roberts, Gareth (1990): *Langmuir-Blodgett Films 1*, Springer, New York, ISBN: 978-0306433160.
- Robins, M. J. und Barr, P. J. (1983): Nucleic-Acid Related-Compounds .39. Efficient Conversion of 5-Iodo to 5-Alkynyl and Derived 5-Substituted Uracil Bases and Nucleosides, *Journal of Organic Chemistry* 48 [11], Seite 1854-1862.
- Roque, D. R.; Neill, J. L.; Antoon, J. W. und Stevens, E. P. (2005): Synthesis of 1,2,3-triazoles by cycloadditions of azides with enol ethers, *Synthesis-Stuttgart* [15], Seite 2497-2502.
- Rosemeyer, H. (2004): The chemodiversity of purine as a constituent of natural products, *Chemistry & Biodiversity* 1 [3], Seite 361-401.
- Rosemeyer, H. (2005): Nucleolipids: Natural occurrence, synthesis, molecular recognition, and supramolecular assemblies as potential precursors of life and bioorganic materials, *Chemistry & Biodiversity* 2 [8], Seite 977-1062.
- Rosemeyer, H.; Ahlers, M.; Schmidt, B. und Seela, F. (1985): A Nucleolipid with Antiviral Acycloguanosine as Head Group - Synthesis and Liposome Formation, *Angewandte Chemie-International Edition in English* 24 [6], Seite 501-502.
- Rosemeyer, H.; Sturenberg, E. M. und Herdewijn, P. (2007): Nucleolipids as potential organogelators, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 26 [8-9], Seite 995-999.
- Rosenbohm, C.; Christensen, S. M.; Sorensen, M. D.; Pedersen, D. S.; Larsen, L. E.; Wengel, J. und Koch, T. (2003): Synthesis of 2'-amino-LNA: a new strategy, *Organic & Biomolecular Chemistry* 1 [4], Seite 655-663.
- Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V. und Sharpless, K. B. (2002): A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes, *Angewandte Chemie-International Edition* 41 [14], Seite 2596-+.
- Ruegg, U; Rudinger, J (1977): Reductive cleavage of cystine disulfides with tributylphosphine, *Methods in Enzymology* 47, Seite 111-116.

Rump, E. T.; de Vruet, R. L. A.; Sliedregt, L. A. J. M.; Biessen, E. A. L.; van Berkel, T. J. C. und Bijsterbosch, M. K. (1998): Preparation of conjugates of oligodeoxynucleotides and lipid structures and their interaction with low-density lipoprotein, *Bioconjugate Chemistry* 9 [3], Seite 341-349.

Sato, T.; Suzuki, S.; Suzuki, Y.; Miyaji, Y. und Imai, Z. (1969): Reduction of Organic Compounds with Sodium Borohydride-Transition Metal Salt Systems .1. Reduction of Organic Nitrile, Nitro and Amide Compounds to Primary Amines, *Tetrahedron Letters* [52], Seite 4555-&.

Schakowski, F.; Gorschluter, M.; Buttgerit, P.; Marten, A.; Lilienfeld-Toal, M. V.; Junghans, C.; Schroff, M.; König-Merediz, S. A.; Ziske, C.; Strehl, J.; Sauerbruch, T.; Wittig, B. und Schmidt-Wolf, I. G. H. (2007): Minimal size MIDGE vectors improve transgene expression in vivo, *In Vivo* 21 [1], Seite 17-23.

Scheidt, H. A.; Flasche, W.; Cismas, C.; Rost, M.; Herrmann, A.; Liebscher, J. und Huster, D. (2004): Design and application of lipophilic nucleosides as building blocks to obtain highly functional biological surfaces, *Journal of Physical Chemistry B* 108 [41], Seite 16279-16287.

Schroff, M. (2007): DNA-Konstrukte zur spezifischen Hemmung der Genexpression durch RNA-Interferenz, WO/2007/059760 31.05.2007, Die Erfindung betrifft Expressionskonstrukte und Verfahren zur ihrer Herstellung, die geeignet sind, nach ihrer Transfektion in eukaryote Zellen in diesen die Bildung definierter Proteine durch RNA-Interferenz gezielt zu inhibieren. Die Verfahren zur Herstellung derartiger Vektoren beinhalten keine PCR-Schritte, sind eine Dreischrittprozedur in einem Reaktionsgefäß und in wenigen Stunden durchführbar. Weiter sind DNA-Expressionskonstrukte, die zur gezielten Hemmung der Genexpression mittels RNA-Interferenz geeignet sind, Gegenstand der Erfindung, wobei es sich um Expressionskonstrukte handelt, die auch zur multiplen Genexpressionshemmung geeignet sind., Speerweg 11, 13465 Berlin.

Schumacher, Till (2005): Synthese und Eigenschaften neuer Nukleosid und Nukleotid-Rezeptor-Liganden mit Uridin-Partialstruktur, Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn.

Schwendener, R. A.; Supersaxo, A.; Rubas, W.; Weder, H. G.; Hartmann, H. R.; Schott, H.; Ziegler, A. und Hengartner, H. (1985): 5'-O-Palmitoyl-5-Fluoro-2'-Deoxyuridine and 3',5'-O-Dipalmitoyl-5-Fluoro-2'-Deoxyuridine - Novel Lipophilic Analogs of 5'-Fluoro-2'-Deoxyuridine - Synthesis, Incorporation into Liposomes and Preliminary Biological Results, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 126 [2], Seite 600-666.

Seelig, J. (1978): P-31 Nuclear Magnetic-Resonance and Head Group Structure of Phospholipids in Membranes, *Biochimica Et Biophysica Acta* 515 [2], Seite 105-140.

Seelig, J. und Seelig, A. (1980): Lipid Conformation in Model Membranes and Biological-Membranes, *Quarterly Reviews of Biophysics* 13 [1], Seite 19-61.

Seelig, J. und Waespesarcevic, N. (1978): Molecular Order in Cis and Trans Unsaturated Phospholipid Bilayers, *Biochemistry* 17 [16], Seite 3310-3315.

Seio, K.; Wada, T.; Sakamoto, K.; Yokoyama, S. und Sekine, M. (1998): Chemical synthesis and properties of conformationally fixed diuridine monophosphates as building blocks of the RNA turn motif, *Journal of Organic Chemistry* 63 [5], Seite 1429-1443.

- Seliger, H. und Gortz, H. H. (1980): Synthesis of Aliphatic Sulfenyl Halides Containing Ester Groups, *Synthetic Communications* 10 [3], Seite 175-182.
- Shea, R. G.; Marsters, J. C. und Bischofberger, N. (1990): Synthesis, Hybridization Properties and Antiviral Activity of Lipid-Oligodeoxynucleotide Conjugates, *Nucleic Acids Research* 18 [13], Seite 3777-3783.
- Shiraishi, T.; Bendifallah, N. und Nielsen, P. E. (2006): Cellular delivery of polyheteroaromate-peptide nucleic acid conjugates mediated by cationic lipids, *Bioconjugate Chemistry* 17 [1], Seite 189-194.
- Shohda, K. und Sugawara, T. (2006): DNA polymerization on the inner surface of a giant liposome for synthesizing an artificial cell model, *Soft Matter* 2 [5], Seite 402-408.
- Shohda, K.; Toyota, T.; Yomo, T. und Sugawara, T. (2003): Direct visualization of DNA duplex formation on the surface of a giant liposome, *ChemBiochem* 4 [8], Seite 778-781.
- Sigmund, H. und Pfeleiderer, W. (1996): Nucleotides .46. The synthesis of phospholipid conjugates of antivirally active nucleosides by the improved phosphoramidite methodology, *Helvetica Chimica Acta* 79 [2], Seite 426-438.
- Silverman, S. K. und Cech, T. R. (1999): RNA tertiary folding monitored by fluorescence of covalently attached pyrene, *Biochemistry* 38 [43], Seite 14224-14237.
- Simonsen, A. C. und Bagatolli, L. A. (2004): Structure of spin-coated lipid films and domain formation in supported membranes formed by hydration, *Langmuir* 20 [22], Seite 9720-9728.
- Singh, D.; Kumar, V. und Ganesh, K. N. (1990): Oligonucleotides .5. Synthesis and Fluorescence Studies of DNA Oligomers D(at)5 Containing Adenines Covalently Linked at C-8 with Dansyl Fluorophore, *Nucleic Acids Research* 18 [11], Seite 3339-3345.
- Singh, R. und Kats, L. (1995): Catalysis of Reduction of Disulfide by Selenol, *Analytical Biochemistry* 232 [1], Seite 86-91.
- Smrt, J. und Hynie, S. (1980): Synthesis of Some Nucleolipids, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 45 [3], Seite 927-932.
- Sontheimer, E. J. (2005): Assembly and function of RNA silencing complexes, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6 [2], Seite 127-138.
- Soutschek, J.; Akinc, A.; Bramlage, B.; Charisse, K.; Constien, R.; Donoghue, M.; Elbashir, S.; Geick, A.; Hadwiger, P.; Harborth, J.; John, M.; Kesavan, V.; Lavine, G.; Pandey, R. K.; Racie, T.; Rajeev, K. G.; Rohl, I.; Toudjarska, I.; Wang, G.; Wuschko, S.; Bumcrot, D.; Kotliansky, V.; Limmer, S.; Manoharan, M. und Vornlocher, H. P. (2004): Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs, *Nature* 432 [7014], Seite 173-178.
- Sproat, B. S.; Beijer, B. und Rider, P. (1987): The Synthesis of Protected 5'-Amino-2',5'-Dideoxyribonucleoside-3'-O-Phosphoramidites - Applications of 5'-Amino-Oligodeoxyribonucleotides, *Nucleic Acids Research* 15 [15], Seite 6181-6196.

Sproat, B. S.; Beijer, B.; Rider, P. und Neuner, P. (1987): The Synthesis of Protected 5'-Mercapto-2',5'-Dideoxyribonucleoside-3'-O-Phosphoramidites - Uses of 5'-Mercapto-Oligodeoxyribonucleotides, *Nucleic Acids Research* 15 [12], Seite 4837-4848.

Stengel, G.; Simonsson, L.; Campbell, R. A. und Hook, F. (2008): Determinants for membrane fusion induced by cholesterol-modified DNA zippers, *Journal of Physical Chemistry B* 112 [28], Seite 8264-8274.

Stengel, G.; Zahn, R. und Hook, F. (2007): DNA-induced programmable fusion of phospholipid vesicles, *Journal of the American Chemical Society* 129 [31], Seite 9584-+.

Stephens, M. I.; Scott, J. F. und Zamecnik, P. C. (1973): Evidence That Polyadenylic Acid Segment of S-35 Rna of Avian Myeloblastosis Virus Is Located at 3'-Oh Terminus, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 55 [1], Seite 8-16.

Stetsenko, D. A.; Arzumanov, A. A.; Korshun, V. A. und Gait, M. J. (2000): Peptide conjugates of oligonucleotides as enhanced antisense agents, *Molecular Biology* 34 [6], Seite 852-859.

Struck, D. K.; Hoekstra, D. und Pagano, R. E. (1981): Use of Resonance Energy-Transfer to Monitor Membrane-Fusion, *Biochemistry* 20 [14], Seite 4093-4099.

Sturino, J. M. und Klaenhammer, T. R. (2006): Engineered bacteriophage-defence systems in bioprocessing, *Nature Reviews Microbiology* 4 [5], Seite 395-404.

Sukeda, M.; Shuto, S.; Sugimoto, I.; Ichikawa, S. und Matsuda, A. (2000): Synthesis of pyrimidine 2'-deoxy ribonucleosides branched at the 2'-position via radical atom-transfer cyclization reaction with a vinylsilyl group as a radical-acceptor tether, *Journal of Organic Chemistry* 65 [26], Seite 8988-8996.

Sutton, R. B.; Fasshauer, D.; Jahn, R. und Brunger, A. T. (1998): Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 angstrom resolution, *Nature* 395 [6700], Seite 347-353.

Teixeira, F.; Rigler, P. und Vebert-Nardin, C. (2007): Nucleo-copolymers: oligonucleotide-based amphiphilic diblock copolymers, *Chemical Communications* [11], Seite 1130-1132.

Terao, J.; Watanabe, H.; Ikumi, A.; Kuniyasu, H. und Kambe, N. (2002): Nickel-catalyzed cross-coupling reaction of Grignard reagents with alkyl halides and tosylates: Remarkable effect of 1,3-butadienes, *Journal of the American Chemical Society* 124 [16], Seite 4222-4223.

Tosquellas, G.; Alvarez, K.; Dell'Aquila, C.; Morvan, F.; Vasseur, J. J.; Imbach, J. L. und Rayner, B. (1998): The pro-oligonucleotide approach: solid phase synthesis and preliminary evaluation of model pro-dodecathymidylates, *Nucleic Acids Research* 26 [9], Seite 2069-2074.

Trouard, T. P.; Alam, T. M. und Brown, M. F. (1994): Angular-Dependence of Deuterium Spin-Lattice Relaxation Rates of Macroscopically Oriented Dilauroylphosphatidylcholine in the Liquid-Crystalline State, *Journal of Chemical Physics* 101 [6], Seite 5229-5261.

Turutin, D. V.; Zatsepin, T. S.; Timchenko, M. A.; Kubareva, E. A. und Oretskaya, T. S. (2002): Crosslinking of transcription factor NF-kappa B with a DNA ligand bearing the 2'-aldehyde group, *Molecular Biology* 36 [5], Seite 705-707.

- Uhlmann, E. und Peyman, A. (1990): Antisense Oligonucleotides - a New Therapeutic Principle, *Chemical Reviews* 90 [4], Seite 543-584.
- Vanmeer, G. und Simons, K. (1983): An Efficient Method for Introducing Defined Lipids into the Plasma-Membrane of Mammalian-Cells, *Journal of Cell Biology* 97 [5], Seite 1365-1374.
- Vernille, J. P.; Kovell, L. C. und Schneider, J. W. (2004): Peptide nucleic acid (PNA) amphiphiles: Synthesis, self-assembly, and duplex stability, *Bioconjugate Chemistry* 15 [6], Seite 1314-1321.
- Vijayanathan, V.; Thomas, T. und Thomas, T. J. (2002): DNA nanoparticles and development of DNA delivery vehicles for gene therapy, *Biochemistry* 41 [48], Seite 14085-14094.
- Virta, P.; Katajisto, J.; Niittymäki, T. und Lonnberg, H. (2003): Solid-supported synthesis of oligomeric bioconjugates, *Tetrahedron* 59 [28], Seite 5137-5174.
- Visscher, I.; Stuart, M. C. A. und Engberts, J. B. F. N. (2006): The influence of phenyl and phenoxy modification in the hydrophobic tails of di-n-alkyl phosphate amphiphiles on aggregate morphology, *Organic & Biomolecular Chemistry* 4 [4], Seite 707-712.
- Wachter, L.; Jablonski, J. A. und Ramachandran, K. L. (1986): A Simple and Efficient Procedure for the Synthesis of 5'-Aminoalkyl Oligodeoxynucleotides, *Nucleic Acids Research* 14 [20], Seite 7985-7994.
- Wagner, D.; Verheyde, J. P. und Moffatt, J. G. (1974): Preparation and Synthetic Utility of Some Organotin Derivatives of Nucleosides, *Journal of Organic Chemistry* 39 [1], Seite 24-30.
- Wasner, M.; Suhadolnik, R. J.; Horvath, S. E.; Adelson, M. E.; Kon, N.; Guan, M. X.; Henderson, E. E. und Pfeleiderer, W. (1996): Nucleosides .60. Synthesis and characterization of monomeric cordycepin-vitamin and cordycepin-lipid conjugates model substances for biodegradable ester and carbonate linkages in conjugates and potential inhibitors of HIV-1 replication, *Helvetica Chimica Acta* 79 [3], Seite 609-618.
- Wasner, M.; Suhadolnik, R. J.; Horvath, S. E.; Adelson, M. E.; Kon, N.; Guan, M. X.; Henderson, E. E. und Pfeleiderer, W. (1996): Nucleotides .49. Synthesis and characterization of cordycepin-trimer-vitamin and -lipid conjugates potential inhibitors of HIV-1 replication, *Helvetica Chimica Acta* 79 [3], Seite 619-633.
- Welch, C. J.; Larsson, A.; Ericson, A. C.; Oberg, B.; Datema, R. und Chattopadhyaya, J. (1985): The Chemical Synthesis and Antiviral Properties of an Acyclovir-Phospholipid Conjugate, *Acta Chemica Scandinavica Series B-Organic Chemistry and Biochemistry* 39 [1], Seite 47-54.
- Will, D. W.; Pritchard, C. E. und Brown, T. (1991): The Synthesis of Oligonucleotides That Contain 2,4-Dinitrophenyl Reporter Groups, *Carbohydrate Research* 216, Seite 315-322.
- Witt, D. (2008): Recent Developments in Disulfide Bond Formation, *Synthesis-Stuttgart* [16], Seite 2491-2509.
- Wnuk, S. F.; Lewandowska, E.; Companioni, D. R.; Garcia, P. I. und Secrist, J. A. (2004): Synthesis and cytotoxicity of 9-(2-deoxy-2-alkyldithio-beta-D-arabinofuranosyl)purine nucleosides which are stable precursors to potential mechanistic probes of ribonucleotide reductases, *Organic & Biomolecular Chemistry* 2 [1], Seite 120-126.

- Wolfrum, C.; Shi, S.; Jayaprakash, K. N.; Jayaraman, M.; Wang, G.; Pandey, R. K.; Rajeev, K. G.; Nakayama, T.; Charrise, K.; Ndungo, E. M.; Zimmermann, T.; Koteliensky, V.; Manoharan, M. und Stoffel, M. (2007): Mechanisms and optimization of in vivo delivery of lipophilic siRNAs, *Nature Biotechnology* 25 [10], Seite 1149-1157.
- Wu, S. X.; Huang, J. G.; Li, C. und Liang, Y. Q. (2004): Fourier transform surface-enhanced Raman scattering of single-layer nucleolipid Langmuir-Blodgett films on silver island film substrates, *Journal of Colloid and Interface Science* 270 [2], Seite 309-314.
- Xu, Y. H. und Szoka, F. C. (1996): Mechanism of DNA release from cationic liposome/DNA complexes used in cell transfection, *Biochemistry* 35 [18], Seite 5616-5623.
- Yanagawa, H.; Ogawa, Y.; Furuta, H. und Tsuno, K. (1989): Spontaneous Formation of Superhelical Strands, *Journal of the American Chemical Society* 111 [13], Seite 4567-4570.
- Yoshimura, Y.; Iino, T. und Matsuda, A. (1991): Nucleosides and Nucleotides .102. Stereoselective Radical Deoxygenation of Tert-Propargyl Alcohols in Sugar Moiety of Pyrimidine Nucleosides - Synthesis of 2'-C-Alkynyl-2'-Deoxy-1-Beta-D-Arabinofuranosylpyrimidines, *Tetrahedron Letters* 32 [42], Seite 6003-6006.
- Yoshina-Ishii, C. und Boxer, S. G. (2003): Arrays of mobile tethered vesicles on supported lipid bilayers, *Journal of the American Chemical Society* 125 [13], Seite 3696-3697.
- Yoshina-Ishii, C.; Chan, Y. H. M.; Johnson, J. M.; Kung, L. A.; Lenz, P. und Boxer, S. G. (2006): Diffusive dynamics of vesicles tethered to a fluid supported bilayer by single-particle tracking, *Langmuir* 22 [13], Seite 5682-5689.
- Yoshina-Ishii, C.; Miller, G. P.; Kraft, M. L.; Kool, E. T. und Boxer, S. G. (2005): General method for modification of liposomes for encoded assembly on supported bilayers, *Journal of the American Chemical Society* 127 [5], Seite 1356-1357.
- Yu, C. J.; Yowanto, H.; Wan, Y. J.; Meade, T. J.; Chong, Y.; Strong, M.; Donilon, L. H.; Kayyem, J. F.; Gozin, M. und Blackburn, G. F. (2000): Uridine-conjugated ferrocene DNA oligonucleotides: Unexpected cyclization reaction of the uridine base, *Journal of the American Chemical Society* 122 [28], Seite 6767-6768.
- Zandomenighi, G.; Luisi, P. L.; Mannina, L. und Segre, A. (2001): NMR study of micelles formed by monoalkylphosphoryl nucleosides, *Helvetica Chimica Acta* 84 [12], Seite 3710-3725.
- Zatsepin, T. S.; Gait, M. J. und Oretskaya, T. S. (2004): 2'-functionalized nucleic acids as structural tools in molecular biology, *Iubmb Life* 56 [4], Seite 209-214.
- Zatsepin, T. S.; Kachalova, A. V.; Romanova, E. A.; Stetsenko, D. A.; Gait, M. J. und Oretskaya, T. S. (2001): Synthesis and properties of modified oligodeoxyribonucleotides containing 2'-O-(2,3-dihydroxypropyl)uridine and 2'-O-(2-oxoethyl)uridine, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 27 [1], Seite 39-44.
- Zatsepin, T. S. und Oretskaya, T. S. (2004): Synthesis and applications of oligonucleotide-carbohydrate conjugates, *Chemistry & Biodiversity* 1 [10], Seite 1401-1417.

Zatsepin, T. S.; Romanova, E. A. und Oretskaya, T. S. (2004): Nucleosides and oligonucleotides with 2'-reactive groups: Synthesis and applications, *Uspekhi Khimii* 73 [7], Seite 757-791.

Zelikin, A.; Shastri, V. R. und Langer, R. (1999): Facile synthesis of 3-alkylpyrroles, *Journal of Organic Chemistry* 64 [9], Seite 3379-3380.

Zhang, J. T.; Chua, L. S. und Lynn, D. M. (2004): Multilayered thin films that sustain the release of functional DNA under physiological conditions, *Langmuir* 20 [19], Seite 8015-8021.

Zhang, L.; Chen, X. G.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. und Jia, G. C. (2005): Ruthenium-catalyzed cycloaddition of alkynes and organic azides, *Journal of the American Chemical Society* 127 [46], Seite 15998-15999.

Zhu, L.; dos Santos, O.; Seeman, N. C. und Canary, J. W. (2002): Reaction of N-3-benzoyl-3',5'-O-(di-tert-butylsilanediyl)uridine with hindered electrophiles: Intermolecular N-3 to 2'-O protecting group transfer, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* 21 [10], Seite 723-735.

Zhu, L.; Lukeman, P. S.; Canary, J. W. und Seeman, N. C. (2003): Nylon/DNA: Single-stranded DNA with a covalently stitched nylon lining, *Journal of the American Chemical Society* 125 [34], Seite 10178-10179.

Anhang

S2'-(Hexadecylmercapto)uridin OK 268

Identification code	d:\x-data\kacz1
Empirical formula	C ₂₅ H ₄₄ N ₂ O ₅ S
Formula weight	484.68
Temperature	100(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 7.4662(15) Å alpha = 90 deg b = 5.5675(7) Å beta = 92.569(18) deg c = 33.317(9) Å gamma = 90 deg.
Volume	1383.5(5) Å ³
Z, Calculated density	2, 1.163 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.152 mm ⁻¹
F(000)	528
Crystal size	0.60 x 0.20 x 0.05 mm
Theta range for data collection	3.22 to 23.78 deg.
Limiting indices	-8<=h<=8, -5<=k<=6, -37<=l<=37
Reflections collected / unique	12447 / 4014 [R(int) = 0.2407]
Completeness to theta	= 23.78 98.3 %
Max. and min. transmission	0.9925 and 0.9145
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	4014 / 1 / 161
Goodness-of-fit on F ²	1.658
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.2331, wR2 = 0.5058
R indices (all data)	R1 = 0.3132, wR2 = 0.5508
Absolute structure parameter	0.0(6)

Largest diff. peak and hole	1.099 and -0.622 e.Å ⁻³
-----------------------------	------------------------------------

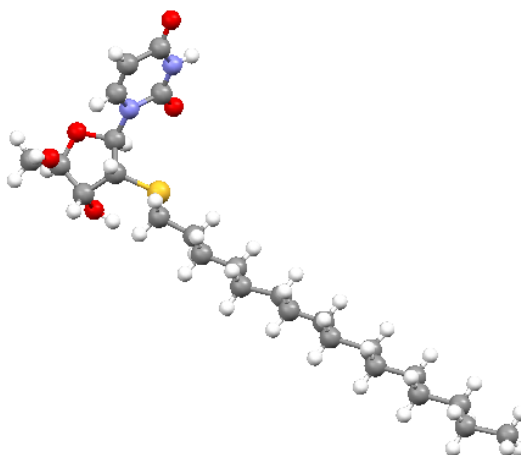


Tabelle 8: Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters Å² $\times 10^3$) for OK-268. U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor

	X	Y	Z	U(eq)
C(1)	-5150(30)	-1700(40)	-8585(6)	72(6)
C(2)	-7030(30)	-1780(40)	-8406(6)	56(5)
C(3)	-8110(20)	-2230(40)	-8770(5)	48(4)
C(4)	-5290(30)	-3620(40)	-8911(5)	52(5)
C(5)	-9080(30)	70(40)	8948(7)	74(7)
C(6)	-2740(30)	-5070(40)	-9307(6)	54(5)
C(7)	-1890(20)	-2770(30)	-9895(5)	46(5)
C(8)	-3360(30)	-1000(40)	-9825(6)	54(5)
C(9)	-4290(30)	-1330(40)	-9504(6)	54(5)
C(10)	-2770(30)	520(40)	-8062(6)	61(5)
C(11)	-1120(30)	430(40)	-7773(6)	68(6)
C(12)	-360(30)	2810(50)	-7618(6)	65(5)
C(13)	1330(30)	2760(50)	-7391(6)	62(5)
C(14)	1940(30)	5180(50)	-7242(7)	85(7)
C(15)	3970(30)	5140(40)	-7051(6)	62(6)
C(16)	4780(30)	7620(60)	-6944(7)	88(7)

C(17)	6460(30)	7450(50)	-6738(7)	76(6)
C(18)	7190(30)	9820(40)	-6615(7)	69(6)
C(19)	9210(40)	9790(50)	-6390(8)	86(7)
C(20)	9810(40)	12130(60)	-6270(8)	94(8)
C(21)	11790(40)	12110(60)	-6068(9)	109(10)
C(22)	12380(40)	14630(50)	-5934(8)	89(8)
C(23)	14420(50)	14550(70)	-5725(10)	115(10)
C(24)	15080(60)	17060(110)	-5546(14)	189(19)
C(25)	17260(50)	17340(90)	-5367(10)	141(12)
N(1)	-4153(18)	-3220(30)	-9246(4)	41(3)
N(2)	-1780(20)	-4530(30)	-9626(4)	53(4)
O(1)	-7118(16)	-3240(20)	-9084(3)	53(3)
O(2)	-7055(16)	-3800(30)	-8146(5)	83(5)
O(3)	-7675(18)	1780(20)	-8983(6)	82(5)
O(4)	-2553(17)	-6640(20)	-9087(4)	61(4)
O(5)	-1026(16)	-2670(30)	-10196(4)	66(4)
S(1)	-3178(7)	-2385(10)	-8260(2)	67(2)

Tabelle 9: Bond lengths [Å] and angles [deg] for OK-268

C(1)-C(4)	1.52(3)
C(1)-C(2)	1.55(3)
C(1)-S(1)	1.83(2)
C(1)-H(1)	1.0000
C(2)-O(2)	1.42(2)
C(2)-C(3)	1.45(3)
C(2)-H(2)	1.0000
C(3)-O(1)	1.42(2)
C(3)-C(5)	1.58(3)

C(3)-H(3)	1.0000
C(4)-N(1)	1.45(2)
C(4)-O(1)	1.47(2)
C(4)-H(4)	1.0000
C(5)-O(3)	1.42(3)
C(5)-H(5A)	0.9900
C(5)-H(5B)	0.9900
C(6)-O(4)	1.14(2)
C(6)-N(2)	1.34(2)
C(6)-N(1)	1.49(2)
C(7)-O(5)	1.216(19)
C(7)-N(2)	1.33(2)
C(7)-C(8)	1.50(3)
C(8)-C(9)	1.32(3)
C(8)-H(8)	0.9500
C(9)-N(1)	1.36(2)
C(9)-H(9)	0.9500
C(10)-C(11)	1.53(3)
C(10)-S(1)	1.77(2)
C(10)-H(10A)	0.9900
C(10)-H(10B)	0.9900
C(11)-C(12)	1.52(3)
C(11)-H(11A)	0.9900
C(11)-H(11B)	0.9900
C(12)-C(13)	1.44(3)
C(12)-H(12A)	0.9900
C(12)-H(12B)	0.9900
C(13)-C(14)	1.50(4)

C(13)-H(13A)	0.9900
C(13)-H(13B)	0.9900
C(14)-C(15)	1.62(3)
C(14)-H(14A)	0.9900
C(14)-H(14B)	0.9900
C(15)-C(16)	1.54(4)
C(15)-H(15A)	0.9900
C(15)-H(15B)	0.9900
C(16)-C(17)	1.41(3)
C(16)-H(16A)	0.9900
C(16)-H(16B)	0.9900
C(17)-C(18)	1.48(3)
C(17)-H(17A)	0.9900
C(17)-H(17B)	0.9900
C(18)-C(19)	1.66(3)
C(18)-H(18A)	0.9900
C(18)-H(18B)	0.9900
C(19)-C(20)	1.42(4)
C(19)-H(19A)	0.9900
C(19)-H(19B)	0.9900
C(20)-C(21)	1.60(4)
C(20)-H(20A)	0.9900
C(20)-H(20B)	0.9900
C(21)-C(22)	1.53(4)
C(21)-H(21A)	0.9900
C(21)-H(21B)	0.9900
C(22)-C(23)	1.65(4)
C(22)-H(22A)	0.9900

C(22)-H(22B)	0.9900
C(23)-C(24)	1.59(6)
C(23)-H(23A)	0.9900
C(23)-H(23B)	0.9900
C(24)-C(25)	1.72(5)
C(24)-H(24A)	0.9900
C(24)-H(24B)	0.9900
C(25)-H(25A)	0.9800
C(25)-H(25B)	0.9800
C(25)-H(25C)	0.9800
N(2)-H(2N)	0.8800
O(2)-H(2O)	0.8400
O(3)-H(3O)	0.8400
C(4)-C(1)-C(2)	102.7(17)
C(4)-C(1)-S(1)	107.7(15)
C(2)-C(1)-S(1)	118.9(15)
C(4)-C(1)-H(1)	109.0
C(2)-C(1)-H(1)	109.0
S(1)-C(1)-H(1)	109.0
O(2)-C(2)-C(3)	110.7(17)
O(2)-C(2)-C(1)	107.0(17)
C(3)-C(2)-C(1)	99.3(15)
O(2)-C(2)-H(2)	113.0
C(3)-C(2)-H(2)	113.0
C(1)-C(2)-H(2)	113.0
O(1)-C(3)-C(2)	113.4(15)
O(1)-C(3)-C(5)	106.7(14)
C(2)-C(3)-C(5)	113.6(18)

O(1)-C(3)-H(3)	107.6
C(2)-C(3)-H(3)	107.6
C(5)-C(3)-H(3)	107.6
N(1)-C(4)-O(1)	103.9(13)
N(1)-C(4)-C(1)	114.7(17)
O(1)-C(4)-C(1)	102.3(15)
N(1)-C(4)-H(4)	111.7
O(1)-C(4)-H(4)	111.7
C(1)-C(4)-H(4)	111.7
O(3)-C(5)-C(3)	104.5(17)
O(3)-C(5)-H(5A)	110.8
C(3)-C(5)-H(5A)	110.8
O(3)-C(5)-H(5B)	110.8
C(3)-C(5)-H(5B)	110.8
H(5A)-C(5)-H(5B)	108.9
O(4)-C(6)-N(2)	128(2)
O(4)-C(6)-N(1)	120.5(17)
N(2)-C(6)-N(1)	111.1(17)
O(5)-C(7)-N(2)	125.1(17)
O(5)-C(7)-C(8)	120.8(17)
N(2)-C(7)-C(8)	113.7(15)
C(9)-C(8)-C(7)	116.7(19)
C(9)-C(8)-H(8)	121.6
C(7)-C(8)-H(8)	121.6
C(8)-C(9)-N(1)	126.6(19)
C(8)-C(9)-H(9)	116.7
N(1)-C(9)-H(9)	116.7
C(11)-C(10)-S(1)	108.9(16)

C(11)-C(10)-H(10A)	109.9
S(1)-C(10)-H(10A)	109.9
C(11)-C(10)-H(10B)	109.9
S(1)-C(10)-H(10B)	109.9
H(10A)-C(10)-H(10B)	108.3
C(12)-C(11)-C(10)	117.6(19)
C(12)-C(11)-H(11A)	107.9
C(10)-C(11)-H(11A)	107.9
C(12)-C(11)-H(11B)	107.9
C(10)-C(11)-H(11B)	107.9
H(11A)-C(11)-H(11B)	107.2
C(13)-C(12)-C(11)	118(2)
C(13)-C(12)-H(12A)	107.8
C(11)-C(12)-H(12A)	107.8
C(13)-C(12)-H(12B)	107.8
C(11)-C(12)-H(12B)	107.8
H(12A)-C(12)-H(12B)	107.2
C(12)-C(13)-C(14)	114(2)
C(12)-C(13)-H(13A)	108.8
C(14)-C(13)-H(13A)	108.8
C(12)-C(13)-H(13B)	108.8
C(14)-C(13)-H(13B)	108.8
H(13A)-C(13)-H(13B)	107.7
C(13)-C(14)-C(15)	112(2)
C(13)-C(14)-H(14A)	109.1
C(15)-C(14)-H(14A)	109.1
C(13)-C(14)-H(14B)	109.1
C(15)-C(14)-H(14B)	109.1

H(14A)-C(14)-H(14B)	107.8
C(16)-C(15)-C(14)	115.4(19)
C(16)-C(15)-H(15A)	108.4
C(14)-C(15)-H(15A)	108.4
C(16)-C(15)-H(15B)	108.4
C(14)-C(15)-H(15B)	108.4
H(15A)-C(15)-H(15B)	107.5
C(17)-C(16)-C(15)	112(3)
C(17)-C(16)-H(16A)	109.1
C(15)-C(16)-H(16A)	109.1
C(17)-C(16)-H(16B)	109.1
C(15)-C(16)-H(16B)	109.1
H(16A)-C(16)-H(16B)	107.8
C(16)-C(17)-C(18)	112(2)
C(16)-C(17)-H(17A)	109.1
C(18)-C(17)-H(17A)	109.1
C(16)-C(17)-H(17B)	109.1
C(18)-C(17)-H(17B)	109.1
H(17A)-C(17)-H(17B)	107.9
C(17)-C(18)-C(19)	116(2)
C(17)-C(18)-H(18A)	108.3
C(19)-C(18)-H(18A)	108.3
C(17)-C(18)-H(18B)	108.3
C(19)-C(18)-H(18B)	108.3
H(18A)-C(18)-H(18B)	107.4
C(20)-C(19)-C(18)	113(2)
C(20)-C(19)-H(19A)	109.0
C(18)-C(19)-H(19A)	109.0

C(20)-C(19)-H(19B)	109.0
C(18)-C(19)-H(19B)	109.0
H(19A)-C(19)-H(19B)	107.8
C(19)-C(20)-C(21)	113(2)
C(19)-C(20)-H(20A)	109.1
C(21)-C(20)-H(20A)	109.1
C(19)-C(20)-H(20B)	109.1
C(21)-C(20)-H(20B)	109.1
H(20A)-C(20)-H(20B)	107.8
C(22)-C(21)-C(20)	112(2)
C(22)-C(21)-H(21A)	109.3
C(20)-C(21)-H(21A)	109.3
C(22)-C(21)-H(21B)	109.3
C(20)-C(21)-H(21B)	109.3
H(21A)-C(21)-H(21B)	108.0
C(21)-C(22)-C(23)	111(2)
C(21)-C(22)-H(22A)	109.5
C(23)-C(22)-H(22A)	109.5
C(21)-C(22)-H(22B)	109.5
C(23)-C(22)-H(22B)	109.5
H(22A)-C(22)-H(22B)	108.1
C(24)-C(23)-C(22)	114(3)
C(24)-C(23)-H(23A)	108.8
C(22)-C(23)-H(23A)	108.8
C(24)-C(23)-H(23B)	108.8
C(22)-C(23)-H(23B)	108.8
H(23A)-C(23)-H(23B)	107.7
C(23)-C(24)-C(25)	119(4)

C(23)-C(24)-H(24A)	107.6
C(25)-C(24)-H(24A)	107.6
C(23)-C(24)-H(24B)	107.6
C(25)-C(24)-H(24B)	107.6
H(24A)-C(24)-H(24B)	107.0
C(24)-C(25)-H(25A)	109.5
C(24)-C(25)-H(25B)	109.5
H(25A)-C(25)-H(25B)	109.5
C(24)-C(25)-H(25C)	109.5
H(25A)-C(25)-H(25C)	109.5
H(25B)-C(25)-H(25C)	109.5
C(9)-N(1)-C(4)	125.0(16)
C(9)-N(1)-C(6)	118.7(15)
C(4)-N(1)-C(6)	116.3(15)
C(7)-N(2)-C(6)	133.0(18)
C(7)-N(2)-H(2N)	113.5
C(6)-N(2)-H(2N)	113.5
C(3)-O(1)-C(4)	105.7(12)
C(2)-O(2)-H(2O)	109.5
C(5)-O(3)-H(3O)	109.5
C(10)-S(1)-C(1)	98.6(11)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

Tabelle 10: Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for OK-268. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
O(2)	11(6)	117(15)	121(13)	27(11)	3(7)	-8(7)
O(3)	44(8)	9(6)	191(17)	4(8)	-5(9)	7(5)

O(4)	40(7)	33(8)	111(11)	22(7)	22(7)	22(6)
O(5)	50(8)	67(10)	85(9)	9(8)	31(7)	26(8)
S(1)	49(3)	40(3)	113(4)	4(3)	5(3)	28(3)

Tabelle 11: Hydrogencoordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for OK-268

	x	y	z	U(eq)
H(1)	-4980	-97	-8714	87
H(2)	-7359	-247	-8270	68
H(3)	-9063	-3416	-8703	58
H(4)	-5137	-5267	-8796	63
H(5A)	-9668	-271	-9214	89
H(5B)	-9988	668	-8765	89
H(8)	-3599	303	-10004	65
H(9)	-5151	-136	-9447	65
H(10A)	-2564	1659	-8283	73
H(10B)	-3826	1073	-7918	73
H(11A)	-1427	-553	-7538	81
H(11B)	-159	-433	-7909	81
H(12A)	-223	3876	-7852	77
H(12B)	-1256	3552	-7448	77
H(13A)	2259	2088	-7563	74
H(13B)	1225	1674	-7159	74
H(14A)	1120	5736	-7036	101
H(14B)	1861	6335	-7468	101
H(15A)	3999	4144	-6805	75
H(15B)	4748	4347	-7245	75
H(16A)	4908	8555	-7194	105
H(16B)	3945	8503	-6775	105

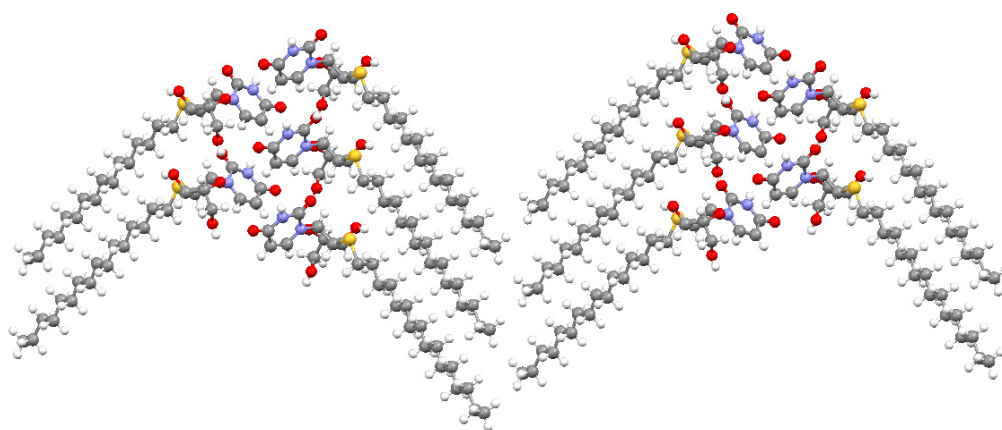
H(17A)	7318	6645	-6914	91
H(17B)	6349	6434	-6496	91
H(18A)	6348	10573	-6432	83
H(18B)	7230	10844	-6857	83
H(19A)	9197	8747	-6150	104
H(19B)	10078	9101	-6575	104
H(20A)	8975	12793	-6076	112
H(20B)	9783	13191	-6508	112
H(21A)	11828	11025	-5833	131
H(21B)	12635	11481	-6263	131
H(22A)	11539	15265	-5740	106
H(22B)	12360	15714	-6170	106
H(23A)	14454	13350	-5506	138
H(23B)	15264	14024	-5928	138
H(24A)	14294	17476	-5324	227
H(24B)	14870	18286	-5758	227
H(25A)	17495	16178	-5149	169
H(25B)	17465	18968	-5265	169
H(25C)	18070	17017	-5584	169
H(2N)	-913	-5559	-9666	64
H(2O)	-6168	-3731	-7981	125
H(3O)	-8111	3097	-9064	122

Tabelle 12: Torsion angles [deg] for OK-268

C(4)-C(1)-C(2)-O(2)	78.5(18)
S(1)-C(1)-C(2)-O(2)	-40(2)
C(4)-C(1)-C(2)-C(3)	-37(2)
S(1)-C(1)-C(2)-C(3)	-155.3(16)

O(2)-C(2)-C(3)-O(1)	-91.2(19)
C(1)-C(2)-C(3)-O(1)	21(2)
O(2)-C(2)-C(3)-C(5)	146.7(17)
C(1)-C(2)-C(3)-C(5)	-101.0(19)
C(2)-C(1)-C(4)-N(1)	151.9(17)
S(1)-C(1)-C(4)-N(1)	-81.8(18)
C(2)-C(1)-C(4)-O(1)	40.1(18)
S(1)-C(1)-C(4)-O(1)	166.4(13)
O(1)-C(3)-C(5)-O(3)	-72(2)
C(2)-C(3)-C(5)-O(3)	53(2)
O(5)-C(7)-C(8)-C(9)	176(2)
N(2)-C(7)-C(8)-C(9)	3(3)
C(7)-C(8)-C(9)-N(1)	-5(3)
S(1)-C(10)-C(11)-C(12)	170.7(16)
C(10)-C(11)-C(12)-C(13)	-171.6(18)
C(11)-C(12)-C(13)-C(14)	-178.2(19)
C(12)-C(13)-C(14)-C(15)	-170.8(17)
C(13)-C(14)-C(15)-C(16)	172.0(19)
C(14)-C(15)-C(16)-C(17)	173.2(19)
C(15)-C(16)-C(17)-C(18)	-176.8(19)
C(16)-C(17)-C(18)-C(19)	-177.2(19)
C(17)-C(18)-C(19)-C(20)	-178(2)
C(18)-C(19)-C(20)-C(21)	-178(2)
C(19)-C(20)-C(21)-C(22)	-179(2)
C(20)-C(21)-C(22)-C(23)	180(2)
C(21)-C(22)-C(23)-C(24)	-175(3)
C(22)-C(23)-C(24)-C(25)	-173(3)
C(8)-C(9)-N(1)-C(4)	-176(2)

C(8)-C(9)-N(1)-C(6)	4(3)
O(1)-C(4)-N(1)-C(9)	47(2)
C(1)-C(4)-N(1)-C(9)	-64(2)
O(1)-C(4)-N(1)-C(6)	-132.3(15)
C(1)-C(4)-N(1)-C(6)	116.9(18)
O(4)-C(6)-N(1)-C(9)	177.5(19)
N(2)-C(6)-N(1)-C(9)	0(2)
O(4)-C(6)-N(1)-C(4)	-3(3)
N(2)-C(6)-N(1)-C(4)	179.4(16)
O(5)-C(7)-N(2)-C(6)	-172(2)
C(8)-C(7)-N(2)-C(6)	1(3)
O(4)-C(6)-N(2)-C(7)	-179(2)
N(1)-C(6)-N(2)-C(7)	-2(3)
C(2)-C(3)-O(1)-C(4)	4(2)
C(5)-C(3)-O(1)-C(4)	129.5(16)
N(1)-C(4)-O(1)-C(3)	-147.1(15)
C(1)-C(4)-O(1)-C(3)	-27.4(18)
C(11)-C(10)-S(1)-C(1)	-179.5(15)
C(4)-C(1)-S(1)-C(10)	157.0(15)
C(2)-C(1)-S(1)-C(10)	-86.9(19)



Arabino-*O*2,*O*2'-Anhydro(*O*3',*O*5'-tetraisopropylidisilyl)uridin OK 321

Identification code	d:\x-data\kacz2
Empirical formula	C ₂₂ H ₃₇ Cl ₃ N ₂ O ₆ Si ₂
Formula weight	588.07
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P 21
Unit cell dimensions	a = 8.104 Å alpha = 90 deg. b = 10.382 Å beta = 91.08 deg. c = 16.842 Å gamma = 90 deg.
Volume	1416.8 Å ³
Z, Calculated density	2, 1.379 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.447 mm ⁻¹
F(000)	620
Crystal size	0.52 x 0.32 x 0.24 mm
Theta range for data collection	2.30 to 25.89 deg.
Limiting indices	-9<=h<=9, -12<=k<=12, -20<=l<=20
Reflections collected / unique	10250 / 5476 [R(int) = 0.0161]
Completeness to theta	= 25.89 99.5 %
Absorption correction	None
Max. and min. transmission	0.9004 and 0.8009
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	5476 / 1 / 373
Goodness-of-fit on F ²	1.044
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0289, wR2 = 0.0698
R indices (all data)	R1 = 0.0315, wR2 = 0.0705
Absolute structure parameter	-0.02(5)
Largest diff. peak and hole	0.651 and -0.418 e e.Å ⁻³

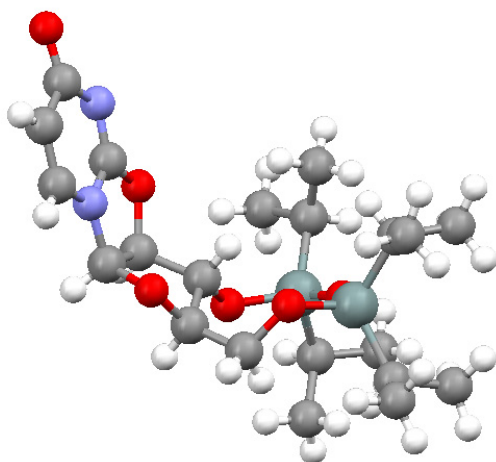


Tabelle 13: Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters $\text{\AA}^2 \times 10^3$ for OK-321. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor

	X	Y	Z	$U(\text{eq})$
C(1)	1424(4)	6701(3)	2804(2)	50(1)
C(2)	3126(5)	6644(4)	3065(3)	77(1)
C(3)	941(4)	5785(3)	2132(2)	40(1)
C(4)	-1744(3)	8324(2)	2617(1)	24(1)
C(5)	-2393(4)	7773(3)	3396(2)	46(1)
C(6)	-2466(3)	9666(3)	2454(2)	34(1)
C(7)	817(3)	11824(2)	3928(2)	27(1)
C(8)	-132(4)	11369(3)	4643(2)	44(1)
C(9)	1521(4)	13170(3)	4064(2)	54(1)
C(10)	4030(3)	10118(2)	4245(1)	25(1)
C(11)	3406(4)	9421(3)	4983(2)	47(1)
C(12)	5181(4)	11200(4)	4502(2)	67(1)
C(13)	2307(3)	11670(2)	2096(1)	21(1)
C(14)	2545(3)	10832(2)	1383(1)	20(1)
C(15)	4221(3)	10061(2)	430(1)	18(1)
C(16)	7261(3)	10115(2)	57(1)	19(1)

C(17)	8639(3)	9406(2)	4(1)	19(1)
C(18)	8645(2)	8054(2)	227(1)	17(1)
C(19)	5948(2)	8291(2)	584(1)	15(1)
C(20)	3269(3)	8896(2)	747(1)	20(1)
C(21)	2590(2)	9386(2)	1533(1)	19(1)
C(22)	6468(3)	3193(2)	2003(1)	26(1)
O(1)	1021(2)	8881(2)	1719(1)	23(1)
O(2)	1296(2)	9348(2)	3276(1)	22(1)
O(3)	3266(2)	11257(2)	2770(1)	20(1)
O(4)	4150(2)	11040(1)	1031(1)	19(1)
O(5)	4475(2)	7864(2)	844(1)	21(1)
O(6)	9845(2)	7343(2)	119(1)	24(1)
Si(1)	552(1)	8344(1)	2610(1)	19(1)
Si(2)	2337(1)	10627(1)	3551(1)	17(1)
Cl(1)	5199(1)	4467(1)	1674(1)	49(1)
Cl(2)	7302(1)	3552(1)	2948(1)	45(1)
Cl(3)	8031(1)	2908(1)	1314(1)	32(1)
N(1)	5865(2)	9540(2)	358(1)	17(1)
N(2)	7210(2)	7538(2)	555(1)	17(1)

Tabelle 14: Bond lengths [Å] and angles [deg] for OK-321

C(1)-C(2)	1.441(4)
C(1)-C(3)	1.524(4)
C(1)-Si(1)	1.872(3)
C(1)-H(1)	1.0000
C(2)-H(2A)	0.9800
C(2)-H(2B)	0.9800
C(2)-H(2C)	0.9800

C(3)-H(3A)	0.9800
C(3)-H(3B)	0.9800
C(3)-H(3C)	0.9800
C(4)-C(5)	1.533(3)
C(4)-C(6)	1.534(4)
C(4)-Si(1)	1.861(2)
C(4)-H(4)	0.94(3)
C(5)-H(5A)	0.9800
C(5)-H(5B)	0.9800
C(5)-H(5C)	0.9800
C(6)-H(6A)	0.9800
C(6)-H(6B)	0.9800
C(6)-H(6C)	0.9800
C(7)-C(8)	1.516(4)
C(7)-C(9)	1.525(4)
C(7)-Si(2)	1.870(2)
C(7)-H(7)	0.83(3)
C(8)-H(8A)	0.9800
C(8)-H(8B)	0.9800
C(8)-H(8C)	0.9800
C(9)-H(9A)	0.9800
C(9)-H(9B)	0.9800
C(9)-H(9C)	0.9800
C(10)-C(12)	1.518(4)
C(10)-C(11)	1.532(3)
C(10)-Si(2)	1.863(2)
C(10)-H(10)	0.95(4)
C(11)-H(11A)	0.9800

C(11)-H(11B)	0.9800
C(11)-H(11C)	0.9800
C(12)-H(12A)	0.9800
C(12)-H(12B)	0.9800
C(12)-H(12C)	0.9800
C(13)-O(3)	1.430(3)
C(13)-C(14)	1.498(3)
C(13)-H(13A)	0.96(2)
C(13)-H(13B)	1.01(3)
C(14)-O(4)	1.456(2)
C(14)-C(21)	1.523(3)
C(14)-H(14)	0.99(2)
C(15)-O(4)	1.437(2)
C(15)-N(1)	1.445(3)
C(15)-C(20)	1.536(3)
C(15)-H(153)	0.93(3)
C(16)-C(17)	1.341(3)
C(16)-N(1)	1.385(3)
C(16)-H(16)	0.96(3)
C(17)-C(18)	1.453(3)
C(17)-H(17)	0.92(3)
C(18)-O(6)	1.238(2)
C(18)-N(2)	1.403(3)
C(19)-N(2)	1.290(3)
C(19)-N(1)	1.353(3)
C(19)-O(5)	1.353(2)
C(20)-O(5)	1.457(3)
C(20)-C(21)	1.531(3)

C(20)-H(20)	0.90(3)
C(21)-O(1)	1.415(2)
C(21)-H(21)	1.00(3)
C(22)-Cl(2)	1.757(2)
C(22)-Cl(1)	1.759(2)
C(22)-Cl(3)	1.759(2)
C(22)-H(22)	0.83(3)
O(1)-Si(1)	1.6524(16)
O(2)-Si(2)	1.6354(16)
O(2)-Si(1)	1.6368(15)
O(3)-Si(2)	1.6611(15)
C(2)-C(1)-C(3)	115.6(3)
C(2)-C(1)-Si(1)	116.5(2)
C(3)-C(1)-Si(1)	110.40(19)
C(2)-C(1)-H(1)	104.2
C(3)-C(1)-H(1)	104.2
Si(1)-C(1)-H(1)	104.2
C(1)-C(2)-H(2A)	109.5
C(1)-C(2)-H(2B)	109.5
H(2A)-C(2)-H(2B)	109.5
C(1)-C(2)-H(2C)	109.5
H(2A)-C(2)-H(2C)	109.5
H(2B)-C(2)-H(2C)	109.5
C(1)-C(3)-H(3A)	109.5
C(1)-C(3)-H(3B)	109.5
H(3A)-C(3)-H(3B)	109.5
C(1)-C(3)-H(3C)	109.5
H(3A)-C(3)-H(3C)	109.5

H(3B)-C(3)-H(3C)	109.5
C(5)-C(4)-C(6)	110.9(2)
C(5)-C(4)-Si(1)	111.64(17)
C(6)-C(4)-Si(1)	111.52(16)
C(5)-C(4)-H(4)	110.2(16)
C(6)-C(4)-H(4)	107.5(16)
Si(1)-C(4)-H(4)	104.9(15)
C(4)-C(5)-H(5A)	109.5
C(4)-C(5)-H(5B)	109.5
H(5A)-C(5)-H(5B)	109.5
C(4)-C(5)-H(5C)	109.5
H(5A)-C(5)-H(5C)	109.5
H(5B)-C(5)-H(5C)	109.5
C(4)-C(6)-H(6A)	109.5
C(4)-C(6)-H(6B)	109.5
H(6A)-C(6)-H(6B)	109.5
C(4)-C(6)-H(6C)	109.5
H(6A)-C(6)-H(6C)	109.5
H(6B)-C(6)-H(6C)	109.5
C(8)-C(7)-C(9)	111.1(2)
C(8)-C(7)-Si(2)	114.20(19)
C(9)-C(7)-Si(2)	114.41(18)
C(8)-C(7)-H(7)	106(2)
C(9)-C(7)-H(7)	105(2)
Si(2)-C(7)-H(7)	105(2)
C(7)-C(8)-H(8A)	109.5
C(7)-C(8)-H(8B)	109.5
H(8A)-C(8)-H(8B)	109.5

C(7)-C(8)-H(8C)	109.5
H(8A)-C(8)-H(8C)	109.5
H(8B)-C(8)-H(8C)	109.5
C(7)-C(9)-H(9A)	109.5
C(7)-C(9)-H(9B)	109.5
H(9A)-C(9)-H(9B)	109.5
C(7)-C(9)-H(9C)	109.5
H(9A)-C(9)-H(9C)	109.5
H(9B)-C(9)-H(9C)	109.5
C(12)-C(10)-C(11)	109.2(2)
C(12)-C(10)-Si(2)	114.2(2)
C(11)-C(10)-Si(2)	113.14(17)
C(12)-C(10)-H(10)	104(2)
C(11)-C(10)-H(10)	111(2)
Si(2)-C(10)-H(10)	104(2)
C(10)-C(11)-H(11A)	109.5
C(10)-C(11)-H(11B)	109.5
H(11A)-C(11)-H(11B)	109.5
C(10)-C(11)-H(11C)	109.5
H(11A)-C(11)-H(11C)	109.5
H(11B)-C(11)-H(11C)	109.5
C(10)-C(12)-H(12A)	109.5
C(10)-C(12)-H(12B)	109.5
H(12A)-C(12)-H(12B)	109.5
C(10)-C(12)-H(12C)	109.5
H(12A)-C(12)-H(12C)	109.5
H(12B)-C(12)-H(12C)	109.5
O(3)-C(13)-C(14)	112.71(18)

O(3)-C(13)-H(13A)	110.4(13)
C(14)-C(13)-H(13A)	105.9(14)
O(3)-C(13)-H(13B)	111.2(16)
C(14)-C(13)-H(13B)	106.1(15)
H(13A)-C(13)-H(13B)	110(2)
O(4)-C(14)-C(13)	111.63(18)
O(4)-C(14)-C(21)	101.25(16)
C(13)-C(14)-C(21)	116.30(18)
O(4)-C(14)-H(14)	108.7(14)
C(13)-C(14)-H(14)	112.6(14)
C(21)-C(14)-H(14)	105.6(15)
O(4)-C(15)-N(1)	111.92(17)
O(4)-C(15)-C(20)	106.61(16)
N(1)-C(15)-C(20)	101.79(17)
O(4)-C(15)-H(153)	109.6(16)
N(1)-C(15)-H(153)	111.7(15)
C(20)-C(15)-H(153)	114.9(16)
C(17)-C(16)-N(1)	118.3(2)
C(17)-C(16)-H(16)	124.5(15)
N(1)-C(16)-H(16)	117.1(15)
C(16)-C(17)-C(18)	120.77(19)
C(16)-C(17)-H(17)	116.8(16)
C(18)-C(17)-H(17)	122.2(16)
O(6)-C(18)-N(2)	119.30(19)
O(6)-C(18)-C(17)	122.51(18)
N(2)-C(18)-C(17)	118.17(17)
N(2)-C(19)-N(1)	127.30(18)
N(2)-C(19)-O(5)	121.25(18)

N(1)-C(19)-O(5)	111.43(17)
O(5)-C(20)-C(21)	113.51(17)
O(5)-C(20)-C(15)	106.10(16)
C(21)-C(20)-C(15)	103.28(17)
O(5)-C(20)-H(20)	109.6(17)
C(21)-C(20)-H(20)	111.5(15)
C(15)-C(20)-H(20)	112.6(16)
O(1)-C(21)-C(14)	112.50(17)
O(1)-C(21)-C(20)	114.06(17)
C(14)-C(21)-C(20)	101.08(17)
O(1)-C(21)-H(21)	114.6(14)
C(14)-C(21)-H(21)	105.1(15)
C(20)-C(21)-H(21)	108.4(15)
Cl(2)-C(22)-Cl(1)	109.81(14)
Cl(2)-C(22)-Cl(3)	111.32(13)
Cl(1)-C(22)-Cl(3)	110.02(13)
Cl(2)-C(22)-H(22)	109.4(18)
Cl(1)-C(22)-H(22)	106.6(18)
Cl(3)-C(22)-H(22)	109.6(18)
C(21)-O(1)-Si(1)	123.28(13)
Si(2)-O(2)-Si(1)	153.14(10)
C(13)-O(3)-Si(2)	119.93(13)
C(15)-O(4)-C(14)	103.26(15)
C(19)-O(5)-C(20)	108.48(16)
O(2)-Si(1)-O(1)	108.61(8)
O(2)-Si(1)-C(4)	111.00(10)
O(1)-Si(1)-C(4)	104.86(9)
O(2)-Si(1)-C(1)	109.13(10)

O(1)-Si(1)-C(1)	111.91(14)
C(4)-Si(1)-C(1)	111.26(14)
O(2)-Si(2)-O(3)	109.56(8)
O(2)-Si(2)-C(10)	108.51(10)
O(3)-Si(2)-C(10)	105.62(9)
O(2)-Si(2)-C(7)	107.25(10)
O(3)-Si(2)-C(7)	108.59(10)
C(10)-Si(2)-C(7)	117.18(11)
C(19)-N(1)-C(16)	118.67(17)
C(19)-N(1)-C(15)	112.10(17)
C(16)-N(1)-C(15)	129.10(18)
C(19)-N(2)-C(18)	116.57(17)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

Tabelle 15: Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$ for OK-321. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2 \pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
C(1)	62(2)	23(1)	65(2)	-12(1)	-33(2)	16(1)
C(2)	77(3)	43(2)	108(3)	-28(2)	-55(2)	29(2)
C(3)	46(2)	22(1)	52(2)	-11(1)	-8(1)	2(1)
C(4)	22(1)	29(1)	21(1)	-1(1)	0(1)	-8(1)
C(5)	47(2)	51(2)	41(2)	8(1)	16(1)	-16(2)
C(6)	21(1)	42(2)	38(1)	5(1)	-3(1)	4(1)
C(7)	26(1)	26(1)	28(1)	-8(1)	-1(1)	6(1)
C(8)	39(2)	45(2)	48(2)	-13(1)	19(1)	5(1)
C(9)	64(2)	27(2)	73(2)	-19(1)	28(2)	0(1)
C(10)	21(1)	30(1)	25(1)	-3(1)	-4(1)	1(1)
C(11)	41(2)	56(2)	44(2)	26(1)	-10(1)	-5(1)

C(12)	62(2)	76(3)	59(2)	26(2)	-39(2)	-41(2)
C(13)	21(1)	21(1)	22(1)	0(1)	1(1)	6(1)
C(14)	17(1)	24(1)	18(1)	-2(1)	-1(1)	5(1)
C(15)	17(1)	22(1)	15(1)	-3(1)	-1(1)	5(1)
C(16)	25(1)	15(1)	16(1)	3(1)	4(1)	-3(1)
C(17)	20(1)	19(1)	18(1)	-1(1)	4(1)	-4(1)
C(18)	18(1)	17(1)	15(1)	-4(1)	-1(1)	0(1)
C(19)	18(1)	15(1)	13(1)	-4(1)	0(1)	-4(1)
C(20)	15(1)	23(1)	22(1)	-8(1)	-3(1)	1(1)
C(21)	13(1)	25(1)	21(1)	-5(1)	-1(1)	-1(1)
C(22)	26(1)	29(1)	23(1)	2(1)	1(1)	1(1)
O(1)	15(1)	32(1)	21(1)	-7(1)	0(1)	-5(1)
O(2)	24(1)	20(1)	21(1)	-3(1)	-3(1)	-3(1)
O(3)	20(1)	21(1)	19(1)	-4(1)	-1(1)	0(1)
O(4)	20(1)	18(1)	19(1)	-4(1)	3(1)	2(1)
O(5)	17(1)	16(1)	29(1)	-3(1)	6(1)	-3(1)
O(6)	20(1)	22(1)	29(1)	-5(1)	3(1)	3(1)
Si(1)	19(1)	16(1)	21(1)	-4(1)	-5(1)	1(1)
Si(2)	16(1)	18(1)	17(1)	-5(1)	-2(1)	1(1)
Cl(1)	49(1)	59(1)	40(1)	18(1)	8(1)	28(1)
Cl(2)	58(1)	55(1)	23(1)	-1(1)	-8(1)	1(1)
Cl(3)	30(1)	37(1)	31(1)	0(1)	7(1)	3(1)
N(1)	18(1)	14(1)	17(1)	1(1)	0(1)	2(1)
N(2)	19(1)	13(1)	18(1)	-2(1)	2(1)	-1(1)

Tabelle 16: Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for OK-321

	X	Y	Z	U(eq)
H(1)	796	6379	3269	60
H(2A)	3428	5748	3179	92
H(2B)	3277	7164	3547	92
H(2C)	3831	6981	2647	92
H(3A)	1404	4930	2242	48
H(3B)	1372	6111	1631	48
H(3C)	-265	5725	2092	48
H(4)	-2060(30)	7790(30)	2190(15)	29(7)
H(5A)	-2001	8304	3841	55
H(5B)	-1991	6889	3465	55
H(5C)	-3602	7772	3378	55
H(6A)	-2044	9996	1952	40
H(6B)	-2144	10250	2887	40
H(6C)	-3673	9609	2419	40
H(7)	120(40)	11910(30)	3564(19)	44(9)
H(8A)	621	11299	5103	52
H(8B)	-623	10525	4529	52
H(8C)	-1007	11989	4759	52
H(9A)	639	13750	4230	65
H(9B)	1994	13489	3570	65
H(9C)	2383	13135	4480	65
H(10)	4700(40)	9570(40)	3940(20)	58(10)
H(11A)	2730	8680	4819	56
H(11B)	2738	10014	5296	56
H(11C)	4349	9121	5305	56
H(12A)	4609	11773	4868	80

H(12B)	5517	11688	4034	80
H(12C)	6160	10836	4769	80
H(13A)	1150(30)	11630(20)	2207(13)	13(5)
H(13B)	2620(30)	12570(30)	1930(16)	33(7)
H(14)	1680(30)	10960(20)	971(14)	21(6)
H(153)	3820(30)	10390(30)	-48(15)	23(6)
H(16)	7180(30)	11010(30)	-85(14)	24(6)
H(17)	9540(30)	9800(30)	-218(15)	26(7)
H(20)	2450(30)	8640(30)	411(14)	24(6)
H(21)	3460(30)	9260(30)	1957(14)	24(6)
H(22)	5870(30)	2550(30)	2033(15)	25(7)

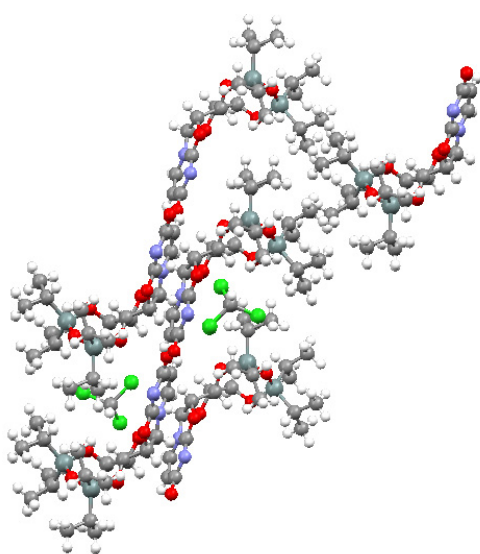
Tabelle 17: Torsion angles [deg] for OK-321

O(3)-C(13)-C(14)-O(4)	-73.0(2)
O(3)-C(13)-C(14)-C(21)	42.5(3)
N(1)-C(16)-C(17)-C(18)	2.5(3)
C(16)-C(17)-C(18)-O(6)	173.3(2)
C(16)-C(17)-C(18)-N(2)	-4.8(3)
O(4)-C(15)-C(20)-O(5)	-115.59(16)
N(1)-C(15)-C(20)-O(5)	1.81(19)
O(4)-C(15)-C(20)-C(21)	4.1(2)
N(1)-C(15)-C(20)-C(21)	121.47(17)
O(4)-C(14)-C(21)-O(1)	-167.21(15)
C(13)-C(14)-C(21)-O(1)	71.6(2)
O(4)-C(14)-C(21)-C(20)	-45.15(18)
C(13)-C(14)-C(21)-C(20)	-166.32(18)
O(5)-C(20)-C(21)-O(1)	-99.9(2)
C(15)-C(20)-C(21)-O(1)	145.67(18)

O(5)-C(20)-C(21)-C(14)	139.12(17)
C(15)-C(20)-C(21)-C(14)	24.70(19)
C(14)-C(21)-O(1)-Si(1)	-110.30(18)
C(20)-C(21)-O(1)-Si(1)	135.32(16)
C(14)-C(13)-O(3)-Si(2)	-110.47(18)
N(1)-C(15)-O(4)-C(14)	-143.44(17)
C(20)-C(15)-O(4)-C(14)	-32.96(19)
C(13)-C(14)-O(4)-C(15)	173.35(17)
C(21)-C(14)-O(4)-C(15)	48.96(18)
N(2)-C(19)-O(5)-C(20)	-175.39(17)
N(1)-C(19)-O(5)-C(20)	3.1(2)
C(21)-C(20)-O(5)-C(19)	-115.75(18)
C(15)-C(20)-O(5)-C(19)	-3.0(2)
Si(2)-O(2)-Si(1)-O(1)	-3.2(3)
Si(2)-O(2)-Si(1)-C(4)	-118.0(2)
Si(2)-O(2)-Si(1)-C(1)	119.0(3)
C(21)-O(1)-Si(1)-O(2)	42.95(18)
C(21)-O(1)-Si(1)-C(4)	161.67(17)
C(21)-O(1)-Si(1)-C(1)	-77.59(19)
C(5)-C(4)-Si(1)-O(2)	-66.1(2)
C(6)-C(4)-Si(1)-O(2)	58.57(18)
C(5)-C(4)-Si(1)-O(1)	176.85(19)
C(6)-C(4)-Si(1)-O(1)	-58.53(18)
C(5)-C(4)-Si(1)-C(1)	55.7(2)
C(6)-C(4)-Si(1)-C(1)	-179.70(18)
C(2)-C(1)-Si(1)-O(2)	-37.9(4)
C(3)-C(1)-Si(1)-O(2)	-172.4(2)
C(2)-C(1)-Si(1)-O(1)	82.3(3)

C(3)-C(1)-Si(1)-O(1)	-52.1(3)
C(2)-C(1)-Si(1)-C(4)	-160.7(3)
C(3)-C(1)-Si(1)-C(4)	64.8(3)
Si(1)-O(2)-Si(2)-O(3)	-6.6(3)
Si(1)-O(2)-Si(2)-C(10)	-121.5(2)
Si(1)-O(2)-Si(2)-C(7)	111.1(2)
C(13)-O(3)-Si(2)-O(2)	59.23(16)
C(13)-O(3)-Si(2)-C(10)	175.91(16)
C(13)-O(3)-Si(2)-C(7)	-57.61(18)
C(12)-C(10)-Si(2)-O(2)	175.6(2)
C(11)-C(10)-Si(2)-O(2)	-58.5(2)
C(12)-C(10)-Si(2)-O(3)	58.2(2)
C(11)-C(10)-Si(2)-O(3)	-175.9(2)
C(12)-C(10)-Si(2)-C(7)	-62.8(3)
C(11)-C(10)-Si(2)-C(7)	63.0(2)
C(8)-C(7)-Si(2)-O(2)	61.4(2)
C(9)-C(7)-Si(2)-O(2)	-168.9(2)
C(8)-C(7)-Si(2)-O(3)	179.75(18)
C(9)-C(7)-Si(2)-O(3)	-50.6(2)
C(8)-C(7)-Si(2)-C(10)	-60.8(2)
C(9)-C(7)-Si(2)-C(10)	68.8(2)
N(2)-C(19)-N(1)-C(16)	0.1(3)
O(5)-C(19)-N(1)-C(16)	-178.28(16)
N(2)-C(19)-N(1)-C(15)	176.46(19)
O(5)-C(19)-N(1)-C(15)	-2.0(2)
C(17)-C(16)-N(1)-C(19)	-0.2(3)
C(17)-C(16)-N(1)-C(15)	-175.78(19)
O(4)-C(15)-N(1)-C(19)	113.46(19)

C(20)-C(15)-N(1)-C(19)	0.0(2)
O(4)-C(15)-N(1)-C(16)	-70.7(3)
C(20)-C(15)-N(1)-C(16)	175.81(19)
N(1)-C(19)-N(2)-C(18)	-2.4(3)
O(5)-C(19)-N(2)-C(18)	175.84(16)
O(6)-C(18)-N(2)-C(19)	-173.66(18)
C(17)-C(18)-N(2)-C(19)	4.6(3)



Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand in der Zeit von November 2004 bis Oktober 2008 unter der Anleitung von Prof. Dr. J. Liebscher am Institut für Organische Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin. Hiermit möchte ich mich herzlich bei all jenen Personen bedanken, die mich auf unterschiedliche Weise während meiner Promotion unterstützt haben.

An erster Stelle richtet sich mein Dank an Herrn **Prof. Dr. J. Liebscher** für die Betreuung meiner Doktorarbeit, sein Interesse am Fortgang der Arbeit sowie für seine wertvollen Anregungen und ständige Diskussionsbereitschaft.

Weiterhin danke ich allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe, die durch ihre Hilfestellung in praktischen, wie auch theoretischen Fragen, sowie durch die Schaffung eines hervorragenden Arbeitsklimas wesentlich zum Gelingen der Arbeit beitrugen. Insbesondere danke ich **Dr. W. Flasche**, der mich in dieses wissenschaftliche Gebiet der Nukleolipide eingeführt hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Andreas Herrmann, **Dr. Anna Arbuzova**, **Dipl. Chem. Martin Löw** an der Humboldt-Universität zu Berlin und auch PD. Daniel Huster und **Dr. Andreas Bunge** an der Universität Leipzig bzw. Universität Halle für die hervorragende Zusammenarbeit bei allen biophysikalischen Fragestellungen, den umfangreichen Messungen und anregenden Diskussionen während unserer halbjährlichen Treffen im Rahmen unseres gemeinsamen BMBF-Projektes bedanken. Im gleichen Atemzug bedanke ich mich auch beim BMBF (Projekt-Nr. 0312018 & 0312076) und dem Projektträger Jülich für die finanzielle Unterstützung.

Ein besonderer Dank geht an **Dipl. Chem. Nicolai Brodersen**, **Dipl. Chem. Haiko Blumenthal** und **Dipl. Chem. Sebastian Karsten** für die wundervolle Zusammenarbeit, die hilfreichen Diskussionen der experimentellen Ergebnisse.

Für ihre Unterstützung möchte ich weiterhin meinen Studenten aus den Forschungspraktika danken, diese waren unter anderen Patrick Wilke, Christian Kühne, Melanie Fischbach, welche durch ihre gute synthetische Arbeit einige Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ermöglichten. Ebenfalls bedanke ich mich bei **Fr. Brosche** für die Hilfe bei vielen praktischen Arbeiten.

Dr. J. Leistner danke ich insbesondere für die Durchführung zahlreicher HPLC/MS- und UPLC/HRMS-Messungen und auch all den anderen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der analytischen Abteilungen der Humboldt-Universität für die Aufnahme von NMR-Spektren, der Elementaranalysen und MS-Spektren sei hiermit gedankt.

Ich bedanke mich auch bei **Dipl. Chem. Sven Hainke** und dem Arbeitskreis von Prof. Dr. O. Seitz für die Einführung und Hilfestellung bei der Phosphoramiditsynthese und der Festphasenoligonukleotidsynthese und **Robert Fänger** und dem Arbeitskreis von Prof. Dr. K. Rademann für die Einführung in die Benutzung des bereitgestellten AFM-Gerätes.

Ich danke von ganzen Herzen meiner Frau **Doris Lösche**, ohne sie hätte ich es nicht zu diesen besonderen Punkt meines Lebens geschafft und auch meinen Eltern Sigrid und Harald Kaczmarek für ihre immerwährende Unterstützung. Danke für Alles. Nur durch Euch bin ich das, was ich bin.

Eidestattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an eidesstatt, dass

- die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt und dass die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken in der Arbeit als solche kenntlich gemacht wurden
- alle Personen genannt wurden, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren
- Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen
- die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder in ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zwecke einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt und in ihrer Gesamtheit noch nicht veröffentlicht wurde
- keine früheren erfolglosen Promotionsversuche stattgefunden haben.

Berlin, am 05.01.2009

Oliver Kaczmarek